

表皮生长因子受体家族单克隆抗体耐药机制的研究进展

贾砚寒^{1,2}, 黎 燕², 彭 晖², 张秋萍¹

[摘要] 表皮生长因子受体(EGFR)家族广泛存在于体内各种细胞中,其异常活化与多种人类上皮组织肿瘤的发生、发展密切相关,因此已成为肿瘤治疗的重要靶点之一。目前靶向 EGFR 家族的药物包括小分子酪氨酸激酶抑制剂和单克隆抗体(简称单抗)类药物,特别是单抗类药物近年来在临床上获得了广泛的应用。但是,越来越多的临床资料表明,大量患者对这类药物表现出原发性耐药或获得性耐药。目前靶向 EGFR 家族单抗类药物产生耐药的原因主要包括:受体结构改变、血管生成、多种受体酪氨酸激酶的活化、EGFR 的亚细胞定位、EGFR 下游效应分子的持续激活和 EGFR 家族生长因子表达的上调等。本文就靶向 EGFR 家族单抗类药物耐药机制的研究进展进行综述。

[关键词] 表皮生长因子受体; 抗药性 肿瘤; 单克隆抗体

[中图分类号] R979.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1674-0440(2012)03-0197-08

Mechanisms of resistance to epidermal growth factor receptor family targeting monoclonal antibodies

JIA Yan-han^{1,2}, LI Yan², PENG Hui², ZHANG Qiu-ping¹

(1. School of Basic Medical Science, Wuhan University, Wuhan 430071, China; 2. Department of Molecular Immunology, Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

[Abstract] The epidermal growth factor receptor (EGFR) family is ubiquitously expressed in various cell types. Aberrant expression or activity of the EGFR has been identified as an etiological factor in the development and progression of many human epithelial tumors. Monoclonal antibodies (mAb) and small molecules tyrosine kinase inhibitor have been widely used to target the receptors. Both approaches have shown antitumor activity in clinical application, especially the mAb. However, increasing evidence suggests primary and acquired resistance to mAb remain a major clinical problem. Several mechanisms of mAb-resistance have been reported, including structural changes in EGFR family receptors, angiogenesis, activation of other receptor tyrosine kinases, subcellular localization of EGFR, constitutive activation of EGFR downstream effector molecules, and increased expression of EGFR family growth factors. This review summarizes the advance on mechanisms of resistance to EGFR family targeting antibodies.

[Key words] epidermal growth factor receptor; drug resistance, neoplasms; monoclonal antibodies

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK) EGF 家族的成员之一,EGFR 家族包括 4 个成员,分别是:EGFR(ErbB1/HER1)、HER2/neu(ErbB2)、HER3(ErbB3)和 HER4(ErbB4)。所有的 EGFR 家族成员都包括 1 个胞外的配体结合区域,1 个单跨膜区域,1 个近膜核定位信号和 1 个胞内酪氨酸激酶区域。其广泛存在于体内的各种细胞中。EGFR 家族受体与配体结合后,引起同源或异源二聚体化,导致胞内酪氨酸残基自身磷酸化从而引起受体激活,进而活化下游信号转导通路。被

EGFR 家族成员活化的信号通路包括 RAS,RAF,MEK,ERK 和 PI3K/Akt 通路,甚至也有报道称 SRC 酪氨酸激酶、磷酸脂酶 C γ (PLC γ)、蛋白激酶 C(PKC),以及信号转导与转录激活因子(STAT)的活化也可由 EGFR 家族成员的活化而激发。以上信号通路的激活进一步促进肿瘤细胞的存活、增殖、侵袭及血管生成。EGFR 的异常表达或激活已经在很多人类上皮组织肿瘤中被证实,并且被认为是发病的一个重要原因,包括头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、结直肠癌、胰腺癌及中枢神经系统肿瘤等^[1]。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30873083,81173082)

作者简介:贾砚寒,男,在读硕士研究生,研究方向:免疫学,E-mail: hxuanxiao@sina.com

作者单位:1. 430071 武汉,武汉大学基础医学院(贾砚寒,张秋萍);2. 100850 北京,军事医学科学院基础医学研究四室(黎燕,彭晖)

通讯作者:彭晖,男,副研究员,硕士生导师,研究方向:肿瘤药理学,Tel: 010-66931326,E-mail: p_h2002@hotmail.com;张秋萍,女,教授,博士生导师,研究方向:肿瘤免疫学,Tel: 027-68759827,E-mail: qpzhang@whu.edu.cn

近 10 年来,靶向 EGFR 的药物作为肿瘤治疗的新方案已被广泛研究。目前 EGFR 的抑制剂可分为两类,一类是小分子酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI),另一类是抗 EGFR 的单克隆抗体(简称单抗, monoclonal antibodies, mAb)。TKI 主要是通过 EGFR 酪氨酸激酶区域的 ATP 结合位点结合,抑制 EGFR 的自身磷酸化,进而阻断下游信号通路,最终抑制肿瘤细胞的增殖^[1]。这类药物已被 FDA 批准上市的有埃洛替尼(erlotinib, Tarceva)、吉非替尼(gefitinib, Iressa) 和拉帕替尼(lapatinib, Tykerb)。

单抗类药物主要是通过阻断 EGFR 胞外区的抗体结合位点,并且阻断其二聚体化,进而诱导受体内化及下调,从而最终阻断下游信号通路。这类药物已被美国 FDA 批准上市的有靶向 EGFR 的抗体西妥昔单抗(cetuximab, Erbitux)、帕尼莫单抗(panitumumab, Vectibix),以及靶向 HER2 的抗体曲妥珠单抗(trastuzumab, Herceptin, 表 1)。

1 抗 EGFR 单克隆抗体的临床试验

1.1 西妥昔单抗

临床试验显示,西妥昔单抗无论是单独使用还是与化疗药物或者放疗联合使用都具有很好的抗肿瘤活性,特别是治疗转移性结直肠癌和 HNSCC^[2]。美国 FDA 于 2004 年批准将西妥昔单抗用于治疗对伊立替康耐药的转移性结直肠癌。

1997 年,一项对 16 例局部晚期 HNSCC 患者的 I 期临床试验最早证实了将西妥昔单抗与放疗联合使用可以提高治疗效果^[3]。另外一项对 424 例患者的 III 期临床试验证明,西妥昔单抗与放疗联合使用比单独运用放疗的 HNSCC 患者反应率提高了 10%^[4]。

II 期临床试验证明,西妥昔单抗与顺铂、卡铂联合使用作为一线治疗方案效果良好^[5]。2 项 III 期临床试验(FLEX 和 BMS099) 证实,西妥昔单抗与顺铂、长春瑞滨联合使用可以提高治疗效果,西妥昔单

抗与卡铂、紫杉烷联合用药可以提高总缓解率^[6]。

然而 Lièvre 等^[7]于 2006 年首次报道,含有 KRAS 突变的患者会对西妥昔单抗的治疗产生耐药,Di Fiore 等^[8]通过研究 59 名对西妥昔单抗耐药的转移性结直肠癌患者,证实了 KRAS 突变与西妥昔单抗的耐药密切相关。随后,越来越多的研究证实了这一点。

1.2 曲妥珠单抗

临床试验显示,经过化疗后仍然病情恶化的 HER2⁺ 转移性乳腺癌患者用曲妥珠单抗治疗后总缓解率为 11% ~ 15%,而将曲妥珠单抗作为一线治疗方案用于转移性乳腺癌治疗,患者总缓解率为 26% ~ 34%^[9]。一项重要的 III 期临床试验表明,相比于单独使用化疗药物,曲妥珠单抗与化疗药物联合使用可以增加 HER2⁺ 转移性乳腺癌患者的总缓解率(分别为 50% 和 32%)、疾病进展时间(分别为 7.4 和 4.6 个月)、总存活时间(分别为 25.1 和 20.3 个月),并且使死亡危险降低了 20%^[10]。研究表明,曲妥珠单抗与多种化疗药物(包括紫杉烷、铂类、长春瑞滨和吉西他滨)联用,总有效率达到 24% ~ 84%^[11]。

除了联合用药之外,将曲妥珠单抗作为辅助治疗方案也得到了发展。一项关于 5 个辅助治疗试验的荟萃分析证实,与单独化疗相比,曲妥珠单抗辅助化疗使 HER2⁺ 乳腺癌患者的死亡率、复发率、转移率均有明显降低^[12]。在新辅助疗法中,曲妥珠单抗辅助化疗方案可使患者的病理学完全反应率达到 12% ~ 65%,临床完全反应率达到 30% ~ 86%^[11]。

美国 FDA 于 1998 年批准将曲妥珠单抗用于治疗 HER2 高表达的乳腺癌。尽管大量 III 期临床数据显示,曲妥珠单抗的一年辅助治疗已经成为针对 HER2⁺ 早期乳腺癌患者的标准治疗方案,但是 II 期临床试验提示,曲妥珠单抗单药治疗只对不到 35% 的 HER2 高表达的转移性乳腺癌患者有效^[9],并且大部分对曲妥珠单抗初期治疗敏感的患者在治疗后 1 ~ 2 年内均出现耐药^[13]。

表 1 美国 FDA 批准的靶向 EGFR 家族药物

药品名称	作用靶点	类型	适应证
吉非替尼(gefitinib, Iressa)	EGFR	酪氨酸激酶抑制剂	非小细胞肺癌
埃洛替尼(erlotinib, Tarceva)	EGFR	酪氨酸激酶抑制剂	非小细胞肺癌, 胰腺癌
拉帕替尼(lapatinib, Tykerb)	EGFR/HER2	酪氨酸激酶抑制剂	乳腺癌
西妥昔单抗(cetuximab, Erbitux)	EGFR	单克隆抗体	结直肠癌, 非小细胞肺癌
帕尼莫单抗(panitumumab, Vectibix)	EGFR	单克隆抗体	转移性结直肠癌
曲妥珠单抗(trastuzumab, Herceptin)	HER2	单克隆抗体	乳腺癌

虽然临床针对靶向 EGFR 家族药物的试验已经有了很多,但是却还没有一个统一的标准来界定获得性耐药的的标准。近年来,研究人员逐渐将注意力转向了针对单抗类药物的耐药机制研究,因此本文以西妥昔单抗和曲妥珠单抗为例,总结和探讨目前关于靶向 EGFR 和 HER2 单克隆抗体类药物的耐药机制。

2 抗 EGFR 的单克隆抗体类药物耐药机制

2.1 EGFR 家族受体结构改变

尽管没有数据显示 EGFR 的点突变与西妥昔单抗耐药相关,但是研究人员却发现了一种名叫 EGFRvIII 的突变体,这种 EGFR 突变体与非突变的 EGFR 相比,缺少了胞外区的配体结合区域。研究人员在一项关于 HNSCC 的研究中发现,42% 的 HNSCC 肿瘤表达 EGFRvIII,并且体内和体外实验均证明 EGFRvIII 可以增强肿瘤细胞的增殖能力。为了研究 EGFRvIII 与西妥昔单抗耐药的关系,将 EGFRvIII 转染到不表达 EGFRvIII 的肿瘤细胞中,然后测定对西妥昔单抗的敏感性,发现表达 EGFRvIII 的细胞对西妥昔单抗的敏感性相对于不表达 EGFRvIII 的细胞大大降低(图 1 A)^[14]。

Anido 等^[15]报道从 HER2 分子跨膜区域的另一种甲硫氨酸起始位点开始翻译得到一种 HER2 的 C 端碎片,该碎片具有激酶活性,却缺少曲妥珠单抗结合表位,因此可以使肿瘤细胞逃脱抗体的杀伤。实际上,HER2 的胞外区在一定情况下确实可能发生脱落,成为一种相对分子质量为 9.5×10^4 的截短

HER2,命名为 p95^{her2}。p95^{her2} 具有激酶活性^[16]。Scaltriti 等^[17]在临床病例中发现,表达 p95^{her2} 的转移性乳腺癌患者对曲妥珠单抗的反应率明显低于不表达 p95^{her2} 的患者。

目前已知拉帕替尼能够抑制 p95^{her2} 的催化活性,因此,表达 p95^{her2} 的乳腺癌患者可以选择拉帕替尼与曲妥珠单抗联合使用^[17]。

另外,膜联糖黏蛋白(MUC4)可以屏蔽掉 HER2 的曲妥珠单抗结合位点,从而导致肿瘤对曲妥珠单抗的获得性耐药^[18]。有报道称,在 HER2 高表达的乳腺癌细胞系中检测到一种缺少了外显子 16 的致癌融合亚型(HER2Δ16)^[19]。缺少外显子 16 会导致持续的二聚体化,进而激活 HER2 受体,增强 Src 活性。表达 HER2Δ16 的细胞都对曲妥珠单抗耐药,但是这种耐药可以被 Src 抑制剂所逆转(图 1 B)^[20]。

2.2 血管生成

很多研究表明,西妥昔单抗的抗肿瘤效应很大程度上是通过抑制血管生成来完成的(图 1 C)。因此,西妥昔单抗的耐药也在一定程度上归因于细胞通过另外的途径重新激活促血管生成因子,从而导致血管生成^[2]。Vilorio-Petit 等^[21]曾报道,对 EGFR 抗体耐药的肿瘤细胞中血管内皮生长因子(VEGF)表达量升高,研究者建立了一个 A431 鳞状细胞癌移植小鼠模型,并且分别对小鼠给予西妥昔单抗、hR3(一种未修饰的人源抗 EGFR 单抗)和 mR3(一种未修饰的鼠源抗 EGFR 单抗)3 种阻断 EGFR 的抗体,并利用该模型建立了 6 种耐药细胞系,分别耐 hR2 和 mR3 抗体,通过免疫印迹方法检测发现,

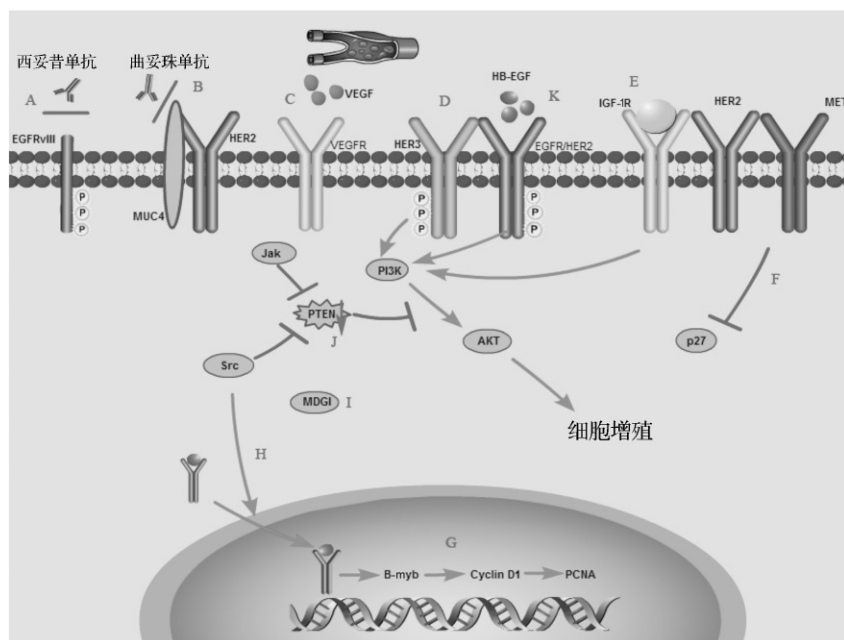


图 1 靶向 EGFR 单抗类药物的耐药机制

EGFR 的水平与亲本株较为一致,但是 VEGF 的 mRNA 和蛋白水平却都提升了 2 倍多。将耐药细胞株移植入小鼠体内,会发现肿瘤对上述 3 种抗体全部耐药,并且血管生成能力增强。另外有研究者通过建立胃癌移植小鼠模型发现,VEGF 抑制剂(DC101)与西妥昔单抗联合使用与单独使用 DC101 或西妥昔单抗相比更好地抑制了肿瘤的生长及诱导肿瘤细胞凋亡^[22]。

2.3 多种受体酪氨酸激酶的活化

对西妥昔单抗敏感的 NSCLC 细胞系 NCIH226、HNSCC 细胞系 UMSCC-4 经过不断增加浓度的西妥昔单抗处理后,建立耐药细胞系,并对其进行检测。发现耐药细胞的 EGFR、HER2、HER3 和肝细胞生长因子受体(MET)表达水平上调。免疫共沉淀检测发现,在耐药细胞中 EGFR 与 HER2、HER3 和 c-MET 的结合能力增强。帕妥珠单抗(pertuzumab)与西妥昔单抗联合使用能够下调 HER3 及 AKT 的表达。因此,以上研究表明,NSCLC 和 HNSCC 耐药细胞可能通过活化多种 RTK 及其与 EGFR 的异源二聚化,从而绕过西妥昔单抗的阻断(图 1D)^[23]。

CDK 抑制剂 p27kip1 调节 HER 家族之外其他 RTK 的活化,会导致曲妥珠单抗的耐药,其中就包括胰岛素样生长因子-1 受体(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF-1R)。将高表达的 IGF-1R 或者 IGF-1R/HER2 异源二聚体转染入曲妥珠单抗敏感的肿瘤细胞,会导致胞内 PI3K 及下游效应分子 AKT 的激活,消除曲妥珠单抗的作用(图 1E)^[24]。

另外,HER2 高表达细胞在用曲妥珠单抗处理后会上调 MET 的表达,进一步研究表明,MET 的活化可以通过阻断 p27 信号从而保护细胞免受曲妥珠单抗的杀伤(图 1F)^[25]。

在大量 HER2⁺的患者中发现,红细胞生成素人肝细胞受体酪氨酸激酶 A₂(EphA2)的高表达往往预示较差的治疗效果。用曲妥珠单抗处理耐药细胞可以诱导胞内 Src 及 EphA2 的磷酸化,进而导致 PI3K/AKT 以及 MAPK 的激活。体内实验证明,EphA2 的中和抗体可以恢复耐药细胞对曲妥珠单抗的敏感^[26]。

有研究表明,红细胞生成素受体(EpoR)在 HER2 高表达的肿瘤中共表达。用重组人红细胞生成素(rHuEPO)处理细胞,可以激活胞内 Jak 和 Src,并且最终导致磷酸酶及张力蛋白同源体(PTEN)的抑制,进而导致对曲妥珠单抗的耐药^[27]。

2.4 EGFR 的亚细胞定位

EGFR 可定位于细胞内的胞内体、线粒体及细

胞核中,细胞核内的 EGFR 在脑癌、乳腺癌、膀胱癌、卵巢癌、NSCLC 和 HNSCC 等很多肿瘤中已检测到,并且已经被看做是 HNSCC、卵巢癌和乳腺癌的一种预后因素。Li 等^[28]通过体外实验发现,西妥昔单抗耐药细胞与敏感细胞相比,细胞核内 EGFR 的水平增高,从而导致细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)、B-myb 及增殖细胞核抗原(PCNA)等 EGFR 调节的下游基因表达升高(图 1G)^[2]。另外,西妥昔单抗耐药细胞的 Src 家族激酶(Src family kinase, SFK)表达升高。用达沙替尼(dasatinib,一种 pan-SFK 抑制剂)处理细胞后发现细胞核 EGFR 水平下降,同时细胞膜表面 EGFR 水平显著增强。并且达沙替尼可以恢复西妥昔单抗耐药细胞对抗体的敏感性。该研究证明, SFK 是 EGFR 定位于细胞核所必需的,可以保护肿瘤细胞免受西妥昔单抗的杀伤(图 1H)^[28]。

Nevo 等^[29]研究发现,乳腺源性生长因子抑制剂(mammary-derived growth factor inhibitor, MDGI)可以导致 EGFR 的细胞内聚集,从而产生西妥昔单抗耐药(图 1I)。

2.5 上皮向间质转化

上皮向间质转化(EMT)已经被看做肿瘤发生的标志之一。EMT 具有以下特征:缺失连接蛋白(如 E-钙黏素)、增加细胞支架丝(如波形蛋白)及侵袭能力增强等^[30]。Fuchs 等^[31]利用 Western 印迹法分析 12 种人类肝细胞癌细胞系的 E-钙黏素和波形蛋白水平来对其进行上皮或间质的分类,最终发现,间质细胞系都表现出对西妥昔单抗、厄洛替尼和吉非替尼的耐药,而上皮细胞都表现出对上述 EGFR 抑制剂的敏感。分析所有 12 个细胞系的下游信号通路发现,间质细胞系 AKT、STAT3 及整联蛋白连接激酶(ILK)表达上调。ILK 是一个已知的 AKT 激动剂。ILK 被抑制的细胞 E-钙黏素表达增加,标志着间质细胞向上皮转化。这一过程跟 AKT 水平的下调相关,并且恢复了细胞对 EGFR 抑制剂的敏感。这一过程在动物的抑制模型中同样被证实。以上研究表明,EMT 和 ILK 在西妥昔单抗耐药中具有非常重要的作用^[31]。

2.6 EGFR 下游效应分子的持续激活

AKT 的持续激活会导致下游 PTEN 的蛋白酶体降解,进而导致 NSCLC 细胞系 NCI-HCC827 对西妥昔单抗的耐药。有研究用蛋白酶体抑制剂 MG-132 处理 HCC827 耐药细胞后,检测到 PTEN 泛素化,证明了 PTEN 是降解的靶点。AKT 抑制剂 LY294002 与西妥昔单抗联合使用比单独使用 LY294002 更好地阻断了 AKT 的激活。上述研究表明,西妥昔单抗

诱导 AKT 的下调需要 PTEN 的参与,并且 PTEN 的下调会直接导致西妥昔单抗的耐药(图 1 J)^[32]。

通过增加胞内激酶 Src 的活性可以激活 PI3K/AKT 通路,Wheeler 等^[33]通过研究对西妥昔单抗耐药的 NCI-H226 细胞(一种 NSCLC 细胞系)发现,耐药株胞内 Src 家族激酶上调。另外,耐药株表达高水平的 AKT,用达沙替尼可以降低 AKT 的活性,进而降低耐药细胞的增殖能力,从而证明了 SFK 信号在西妥昔单抗耐药中的重要作用。并且西妥昔单抗和达沙替尼联合用药处理西妥昔单抗耐药细胞可以大大降低细胞的增殖能力,同时伴随着下游 AKT 信号通路的下调(图 1 J)。

用西妥昔单抗对转移性结直肠癌患者进行临床试验发现,凡是含有 KRAS 突变的患者都表现出对于西妥昔单抗治疗的耐药。因此,将 KRAS 突变水平作为西妥昔治疗的预测指标已经被广泛接受^[34]。Dunn 等^[35-36]研究发现,联合使用西妥昔单抗和达沙替尼可以明显抑制 KRAS 突变的结直肠癌细胞的生长,并且可以检测到 MAPK- β -连环蛋白(catenin)信号通路的下调。体内试验同样验证了这一发现。以上研究证明,在 KRAS 突变的细胞中阻断 SFK 的表达可以导致下游信号通路的下调,进而抑制肿瘤细胞的增殖。

PI3K/AKT 等下游信号通路的异常激活同样会导致细胞对曲妥珠单抗的耐药。在这些信号通路中关键分子的异常突变在乳腺癌及其他肿瘤中经常发生,包括 PI3K 信号通路的过度激活,PIK3CA(编码 PI3K 催化亚基 p110 α 的基因)的功能获得性突变,AKT1 突变 AKT2 的扩增,PTEN 的缺失,肿瘤抑制物肌醇多磷酸 4-磷酸酶。在原发性乳腺癌中,PIK3CA 的突变与淋巴结转移和 HER2 高表达相关^[36]。Berns 等^[37]研究证实,PTEN 是唯一一个敲除后会致曲妥珠单抗耐药的基因。在对乳腺癌患者的研究中发现,PIK3CA 突变及低水平的 PTEN 预示着较差的曲妥珠单抗治疗效果。

2.7 HER 家族生长因子表达的上调

Hatakeyama 等^[37]利用 DNA 微阵列技术比较了 UMSCC-4 细胞(一种口底癌细胞系)及西妥昔单抗耐药细胞系 1C8 的基因表达差异。发现了肝素结合 EGF(HB-EGF)在耐药细胞系中表达升高。进一步实验发现,用 HB-EGF 刺激多种西妥昔单抗敏感的细胞系可以增加其对西妥昔单抗的耐药。另一方面,在 1C8 细胞中敲除 HB-EGF 表达能够恢复细胞对西妥昔单抗的敏感性。利用 RT-PCR 的方法发现,在 1C8 细胞中微小 RNA(microRNA)-212 表达

相对 UMSCC-4 细胞降低至原来的 3.7%。进一步研究发现,微小 RNA-212 可以降低 HB-EGF 的表达,并且能够恢复 1C8 细胞对西妥昔单抗的耐药。其后,研究人员在患者标本中同样检测了 HB-EGF 及其他 EGFR 配体,发现在 HNSCC 肿瘤标本中,HB-EGF、转化生长因子 α (transforming growth factor α , TGF α)及双向调节蛋白均有表达,但是 HB-EGF 在复发肿瘤患者标本中表达更高。并且在复发患者的血浆标本中检测到的 HB-EGF 表达水平比初治患者高 5 倍。以上研究证明,HB-EGF 表达的上调及相关的特异性微小 RNA 表达下调在西妥昔单抗耐药中有着非常重要的作用(图 1 K)^[38]。此外,也有报道称自分泌的 TGF α 会通过激活 EGFR-HER2 二聚体,破坏 HER2 的降解,进而导致曲妥珠单抗的获得性耐药^[39]。

3 克服耐药的策略

根据研究发现的上述各种耐药机制,进行对应联合用药来逆转耐药已经取得了一定进展。如前所述,将 VEGF 抑制剂(DC101)与西妥昔单抗联合使用,可以逆转由于 VEGF 表达上调引起的西妥昔单抗耐药;达沙替尼与西妥昔单抗联合用药可以逆转由于 SFK 表达升高而引起的耐药等。

3.1 新一代的靶向抗体

帕妥珠单抗是一种靶向 HER2 的单抗,其可以结合到 HER2 的异源二聚体化区域,阻断 HER2 与 EGFR 或 HER3 的异源二聚体化作用,且可以逆转包括曲妥珠单抗和西妥昔单抗在内的多种 EGFR 靶向药物的耐药^[40]。帕妥珠单抗现已进入 III 期临床试验阶段,初期的结果显示,该药能极大延长 HER2⁺ 转移性乳腺癌患者的无进展生存期。

3.2 抗体与 TKI 联用

研究表明,EGFR 抑制剂吉非替尼与哺乳动物西罗莫司(雷帕霉素)靶蛋白[mammalian target of sirolimus(Rapamycin),mTOR]抑制剂依维莫司联合用药,能提高对 HER2 高表达乳腺癌的治疗效果^[41]。并且体内研究发现,西妥昔单抗介导的抗肿瘤效应较为短暂,利用 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼和厄洛替尼能够增强西妥昔单抗抗肿瘤作用的持续时间和强度^[42]。

越来越多的临床前研究证实,将曲妥珠单抗与其他靶向抑制 IGF-1R^[43]或 MET 受体^[25]的药物联用,可以逆转曲妥珠单抗的耐药。提示将靶向 EGFR 家族的抗体与靶向其他 RTK 的药物联用可以增强治疗效果,改善耐药。

3.3 抗体与化疗药物联合使用

有研究显示,将细胞毒性的化疗药物跟西妥昔单抗联合使用的抗肿瘤效应明显优于化疗药物或西妥昔单抗单独使用^[44-45],曲妥珠单抗与化疗药相结合的用药方式也大大提高了临床治疗效果,并且已经成为目前治疗 HER2 高表达乳腺癌的标准治疗方案。

3.4 其他

如前所述,EGFR 家族抗体耐药的出现,除了作用位点发生缺失外,引起胞内核心信号通路及其旁路生长因子受体通路代偿性增强及不可控的激活同样是重要原因。这些研究结果表明,肿瘤耐药的复杂病理过程中,必然涉及机体相关信号网络系统和多个靶点引起的多种变化。以往的“疾病-单一基因-单一靶点-特异性药物”研发模式,对于肿瘤、心脑血管疾病等复杂疾病,已经受到广泛质疑。当前药物的研究更侧重综合,在各种“组学”、网络药理学和系统生物学发展基础上,建立“疾病-基因-靶点-药物”相互作用网络,通过网络分析,来观察单个抗体或多个药物与抗体合用对病理网络的干预与影响,全方位考察机体内外因素引起的实际影响,从而提高研发的成功率。因此,以 EGFR 家族受体为靶标,通过组学研究得到的大量数据,构建靶向 EGFR 家族抗体耐药蛋白相互作用网络,分析网络中信号通路之间的交互作用(cross-talk),发现网络关联度高的多种基因及蛋白靶标,合理设计与抗体的组合用药,特异性干预这些关键的病理环节,终止或减缓肿瘤耐药的发生和发展,这是抗肿瘤药物研究的新方向。

4 结语

EGFR 受体酪氨酸激酶家族因其在肿瘤生长及增殖中扮演的重要作用而被广泛研究,并成为治疗多种肿瘤的重要的生物靶点。靶向 EGFR 家族的药物,尤其是单抗类药物近年来在临床上应用很广。但是大量的患者对于 EGFR 靶向抑制剂表现出原发性或获得性耐药。

目前有关靶向 EGFR 家族的单抗类药物的耐药机制研究主要集中在下游的信号通路上,例如 PI3K/AKT。此外,其他耐药机制如血管生成、HER 家族生长因子表达上调、上皮向间质转化等也被发现。但是关于微环境方面的研究还较少,考虑到单抗类药物的抗肿瘤作用很大程度上依赖于一个体内体外的大环境,如抗体依赖细胞介导的细胞毒(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)效

应,作者认为未来的研究将会逐渐转向微环境等方面,并结合细胞内信号通路及其他相关基因和蛋白,寻找新的耐药靶点。

靶向 EGFR 家族单抗类药物的耐药机制是复杂且多种机制共存的,目前很难针对一个有效的靶点来彻底克服耐药。因此,未来的研究趋势是与生物信息学相结合,并利用系统生物学、网络药理学等方法寻求能真正有效克服耐药的靶点,并合理设计组合用药,进而改善 EGFR 家族相关肿瘤的抗体治疗效果。

【参考文献】

- [1] Wheeler DL, Dunn EF, Harari PM. Understanding resistance to EGFR inhibitors-impact on future treatment strategies [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7(9): 493-507.
- [2] Brand TM, Iida M, Wheeler DL. Molecular mechanisms of resistance to the EGFR monoclonal antibody cetuximab [J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11(9): 777-792.
- [3] Robert F, Ezekiel MP, Spencer SA, et al. Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19(13): 3234-3243.
- [4] Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck [J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(6): 567-578.
- [5] Rosell R, Robinet G, Szczesna A, et al. Randomized phase II study of cetuximab plus cisplatin/vinorelbine compared with cisplatin/vinorelbine alone as first-line therapy in EGFR-expressing advanced non-small-cell lung cancer [J]. *Ann Oncol*, 2008, 19(2): 362-369.
- [6] Pirker R, Pereira JR, Szczesna A, et al. Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer (FLEX): an open-label randomised phase III trial [J]. *Lancet*, 2009, 373(9674): 1525-1531.
- [7] Lièvre A, Bachet JB, Le Corre D, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(8): 3992-3995.
- [8] Di Fiore F, Blanchard F, Charbonnier F, et al. Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by cetuximab plus chemotherapy [J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(8): 1166-1169.
- [9] Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, et al. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(3): 719-726.
- [10] Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2 [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(11): 783-792.
- [11] Tokunaga E, Oki E, Nishida K, et al. Trastuzumab and breast cancer: developments and current status [J]. *Int J Clin Oncol*,

- 2006 , 11(3) : 199-208.
- [12] Viani GA , Afonso SL , Stefano EJ , *et al.* Adjuvant trastuzumab in the treatment of her-2-positive early breast cancer: a meta-analysis of published randomized trials[J]. *BMC Cancer* , 2007 , 7: 153.
- [13] Nahta R , Esteva FJ. Trastuzumab: triumphs and tribulations[J]. *Oncogene* , 2007 , 26(25) : 3637-3643.
- [14] Sok JC , Coppelli FM , Thomas SM , *et al.* Mutant epidermal growth factor receptor (EGFRv III) contributes to head and neck cancer growth and resistance to EGFR targeting[J]. *Clin Cancer Res* , 2006 , 12(17) : 5064-5073.
- [15] Anido J , Scaltriti M , Bech Serra JJ , *et al.* Biosynthesis of tumorigenic HER2 C-terminal fragments by alternative initiation of translation[J]. *EMBO J* , 2006 , 25(13) : 3234-3244.
- [16] Esteva FJ , Cheli CD , Fritsche H , *et al.* Clinical utility of serum HER2/neu in monitoring and prediction of progression-free survival in metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab-based therapies [J]. *Breast Cancer Res* , 2005 , 7(4) : R436-443.
- [17] Scaltriti M , Rojo F , Ocana A , *et al.* Expression of p95HER2 , a truncated form of the HER2 receptor , and response to anti-HER2 therapies in breast cancer [J]. *J Natl Cancer Inst* , 2007 , 99(8) : 628-638.
- [18] Nagy P , Friedlander E , Tanner M , *et al.* Decreased accessibility and lack of activation of ErbB2 in JIMT-1 , a herceptin-resistant , MUC4-expressing breast cancer cell line[J]. *Cancer Res* , 2005 , 65(2) : 473-482.
- [19] Castiglioni F , Tagliabue E , Campiglio M , *et al.* Role of exon-16-deleted HER2 in breast carcinomas [J]. *Endocr Relat Cancer* , 2006 , 13(1) : 221-232.
- [20] Mitra D , Brumlik MJ , Okamgba SU , *et al.* An oncogenic isoform of HER2 associated with locally disseminated breast cancer and trastuzumab resistance [J]. *Mol Cancer Ther* , 2009 , 8(8) : 2152-2162.
- [21] Viloria-Petit A , Crombet T , Jothy S , *et al.* Acquired resistance to the antitumor effect of epidermal growth factor receptor-blocking antibodies *in vivo*: a role for altered tumor angiogenesis[J]. *Cancer Res* , 2001 , 61(13) : 5090-5101.
- [22] Jung YD , Mansfield PF , Akagi M , *et al.* Effects of combination anti-vascular endothelial growth factor receptor and anti-epidermal growth factor receptor therapies on the growth of gastric cancer in a nude mouse model [J]. *Eur J Cancer* , 2002 , 38(8) : 1133-1140.
- [23] Wheeler DL , Huang S , Kruser TJ , *et al.* Mechanisms of acquired resistance to cetuximab: role of HER (ErbB) family members [J]. *Oncogene* , 2008 , 27(28) : 3944-3956.
- [24] Nahta R , Yuan LX , Zhang B , *et al.* Insulin-like growth factor-I receptor/human epidermal growth factor receptor 2 heterodimerization contributes to trastuzumab resistance of breast cancer cells[J]. *Cancer Res* , 2005 , 65(23) : 11118-11128.
- [25] Shattuck DL , Miller JK , Carraway KL 3rd , *et al.* Met receptor contributes to trastuzumab resistance of Her2-overexpressing breast cancer cells[J]. *Cancer Res* , 2008 , 68(5) : 1471-1477.
- [26] Zhuang G , Brantley-Sieders DM , Vaught D , *et al.* Elevation of receptor tyrosine kinase EphA2 mediates resistance to trastuzumab therapy[J]. *Cancer Res* , 2010 , 70(1) : 299-308.
- [27] Liang K , Esteva FJ , Albarracin C , *et al.* Recombinant human erythropoietin antagonizes trastuzumab treatment of breast cancer cells *via* Jak2-mediated Src activation and PTEN inactivation[J]. *Cancer Cell* , 2010 , 18(5) : 423-435.
- [28] Li C , Iida M , Dunn EF , *et al.* Nuclear EGFR contributes to acquired resistance to cetuximab [J]. *Oncogene* , 2009 , 28(43) : 3801-3813.
- [29] Nevo J , Mattila E , Pellinen T , *et al.* Mammary-derived growth inhibitor alters traffic of EGFR and induces a novel form of cetuximab resistance [J]. *Clin Cancer Res* , 2009 , 15(21) : 6570-6581.
- [30] Thompson EW , Newgreen DF , Tarin D. Carcinoma invasion and metastasis: a role for epithelial-mesenchymal transition? [J]. *Cancer Res* , 2005 , 65(14) : 5991-5995; discussion 5.
- [31] Fuchs BC , Fujii T , Dorfman JD , *et al.* Epithelial-to-mesenchymal transition and integrin-linked kinase mediate sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibition in human hepatoma cells[J]. *Cancer Res* , 2008 , 68(7) : 2391-2399.
- [32] Kim SM , Kim JS , Kim JH , *et al.* Acquired resistance to cetuximab is mediated by increased PTEN instability and leads cross-resistance to gefitinib in HCC827 NSCLC cells[J]. *Cancer Lett* , 2010 , 296(2) : 150-159.
- [33] Wheeler DL , Iida M , Kruser TJ , *et al.* Epidermal growth factor receptor cooperates with Src family kinases in acquired resistance to cetuximab[J]. *Cancer Biol Ther* , 2009 , 8(8) : 696-703.
- [34] Allegra CJ , Jessup JM , Somerfield MR , *et al.* American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy[J]. *J Clin Oncol* , 2009 , 27(12) : 2091-2096.
- [35] Dunn EF , Iida M , Myers RA , *et al.* Dasatinib sensitizes KRAS mutant colorectal tumors to cetuximab [J]. *Oncogene* , 2011 , 30(5) : 561-574.
- [36] Garrett JT , Arteaga CL. Resistance to HER2-directed antibodies and tyrosine kinase inhibitors: mechanisms and clinical implications[J]. *Cancer Biol Ther* , 2011 , 11(9) : 793-800.
- [37] Berns K , Horlings HM , Hennessy BT , *et al.* A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer[J]. *Cancer Cell* , 2007 , 12(4) : 395-402.
- [38] Hatakeyama H , Cheng H , Wirth P , *et al.* Regulation of heparin-binding EGF-like growth factor by miR-212 and acquired cetuximab-resistance in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *PLoS One* , 2010 , 5(9) : e12702.
- [39] Ghosh R , Narasanna A , Wang SE , *et al.* Trastuzumab has preferential activity against breast cancers driven by HER2 homodimers[J]. *Cancer Res* , 2011 , 71(5) : 1871-1882.
- [40] Kruser TJ , Wheeler DL. Mechanisms of resistance to HER family targeting antibodies [J]. *Exp Cell Res* , 2010 , 316(7) : 1083-1100.

(下转第 231 页)

- agent[J]. *Cancer Invest* , 1990 , 8(2) : 265-266.
- [7] Spencer CM , Goa KL. Amifostine: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties , and therapeutic potential as a radioprotector and cytotoxic chemoprotector[J]. *Drugs* , 1995 , 50(6) : 1001-1031.
- [8] Hosseinimehr SJ. Trends in the development of radioprotective agents [J]. *Drug Discov Today* , 2007 , 12(19-20) : 794-805.
- [9] Neta R , Oppenheim JJ , Schreiber RD , et al. Role of cytokines (interleukin 1 , tumor necrosis factor , and transforming growth factor β) in natural and lipopolysaccharide-enhanced radioresistance[J]. *J Exp Med* , 1991 , 173(5) : 1177-1182.
- [10] Riehl TE , Newberry RD , Lorenz RG , et al. TNFR1 mediates the radioprotective effects of lipopolysaccharide in the mouse intestine [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* , 2004 , 286(1) : G166-173.
- [11] Vijay-Kumar M , Aitken JD , Sanders CJ , et al. Flagellin treatment protects against chemicals , bacteria , viruses , and radiation [J]. *J Immunol* , 2008 , 180(12) : 8280-8285.
- [12] Jones RM , Sloane VM , Wu HX , et al. Flagellin administration protects gut mucosal tissue from irradiation-induced apoptosis via MKP-7 activity [J]. *Gut* , 2011 , 60(5) : 648-657.
- [13] Basith S , Manavalan B , Lee G , et al. Toll-like receptor modulators: a patent review(2006-2010) [J]. *Expert Opin Ther Patents* , 2011 , 21(6) : 927-944.
- [14] Hedayat M , Takeda K , Rezaei N. Prophylactic therapeutic implications of Toll-like receptor ligands[J]. *Med Res Rev* , 2012 , 32(2) : 294-325.
- [15] Hayashi F , Smith KD , Ozinsky A , et al. The innate immune response to bacterial is mediated by Toll-like receptor 5 [J]. *Nature* , 2001 , 410(6832) : 1099-1103.
- [16] Wang Y , Meng AM , Lang HN , et al. Activation of nuclear factor κ B *in vivo* selectively protects the murine small intestine against ionizing radiation-induced damage [J]. *Cancer Res* , 2004 , 64(17) : 6240-6246.
- [17] Ishibashi T , Kimura H , Shikama Y , et al. Interleukin-6 is a potent thrombopoietic factor *in vivo* in mice [J]. *Blood* , 1989 , 74(4) : 1241-1244.
- [18] Burdelya LG , Gleiberman AS , Toshkov I , et al. Toll-like receptor 5 agonist protects mice from dermatitis and oral mucositis caused by local radiation: implications for head-and-neck cancer radiotherapy[J]. *Int J Rad Oncol Biol Phys* , 2011 , 14.
- [19] Sfondrini L , Rossini A , Besusso D , et al. Antitumor activity of the TLR-5 ligand flagellin in mouse models of cancer[J]. *J Immunol* , 2006 , 176(11) : 6624-6630.
- [20] Rhee SH , Im E , Pothoulakis C. Toll-like receptor 5 engagement modulates tumor development and growth in a mouse xenograft of human colon cancer[J]. *Gastroenterology* , 2008 , 135(2) : 518-528.
- [21] Cai ZY , Sanchez A , Shi ZC , et al. Activation of Toll-like receptor 5 on breast cancer cells by flagellin suppresses cell proliferation and tumor growth[J]. *Cancer Res* , 2011 , 71(7) : 2466-2475.

(收稿日期: 2012-03-13 修回日期: 2012-04-24)

(上接第 203 页)

- [41] Dragowska WH , Weppler SA , Qadir MA , et al. The combination of gefitinib and RAD001 inhibits growth of HER2 overexpressing breast cancer cells and tumors irrespective of trastuzumab sensitivity[J]. *BMC Cancer* , 2011 , 11: 420.
- [42] Matar P , Rojo F , Cassia R , et al. Combined epidermal growth factor receptor targeting with the tyrosine kinase inhibitor gefitinib (ZD1839) and the monoclonal antibody cetuximab (IMC-C225) : superiority over single-agent receptor targeting[J]. *Clin Cancer Res* , 2004 , 10(19) : 6487-6501.
- [43] Lu Y , Zi X , Pollak M. Molecular mechanisms underlying IGF-I - induced attenuation of the growth-inhibitory activity of trastuzumab (Herceptin) on SKBR3 breast cancer cells[J]. *Int J Cancer* , 2004 , 108(3) : 334-341.
- [44] Sobrero AF , Maurel J , Fehrenbacher L , et al. EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol* , 2008 , 26(14) : 2311-2319.
- [45] Cunningham D , Humblet Y , Siena S. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer[J]. *N Engl J Med* , 2004 , 351(4) : 337-334.

(收稿日期: 2012-01-17 修回日期: 2012-03-14)

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎登陆我刊网站