

表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂耐药机制研究进展

Progress in Resistant Mechanism to Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor

YANG Jiang-ming

杨江明 (恩泽医疗集团路桥院区, 浙江 台州 318050)

摘要: 肿瘤的分子靶向治疗是近年发展起来的一种全新治疗方向。表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)治疗晚期非小细胞肺癌,已取得一定疗效。全文对 EGFR-TKI 耐药的有关机制研究作一综述。

关键词: 表皮生长因子受体;酪氨酸激酶;耐药

中图分类号: R73-36⁺ **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)02-0138-04

表皮生长因子受体(EGFR)信号途径对许多恶性肿瘤的发生、发展有重要作用,已经成为晚期肿瘤治疗中的一个热点。目前已有小分子的表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)应用于晚期非小细胞肺癌(NSCLC)的治疗,取得了一定的疗效,同时也看到有明显的耐药现象。EGFR 信号通路调节细胞的多种功能,其耐药可能与多个信号转导通路改变有关,包括耐药突变、结构性活化、下游信号的旁路激活及 VEGF 的表达改变等。本文就 EGFR-TKI 耐药的有关机制作一综述。

1 EGFR 及 EGFR-TKI

EGFR 是细胞膜表面的一个受体酪氨酸激酶,主要有两条信号传导途径:RAS/RAF-MEK/ERK 和 PI3k-AKT 途径,具有促进肿瘤细胞增殖、侵犯和新生血管形成等功能。细胞膜 EGFR 的过高表达或活性异常是人类许多上皮性肿瘤形成过程中的重要因素,包括头颈部鳞状细胞癌、非小细胞肺癌、结直肠癌、乳腺癌等。通过抑制 EGFR 活性可以治疗上述肿瘤。目前应用于临床的有吉非替尼和厄洛替尼两类 EGFR-TKI,能特异性结合 EGFR 胞内酪氨酸激酶活性域并抑制其活性,从而抑制肿瘤生长。吉非替尼、厄洛替尼的高敏感性与 EGFR 的体细胞性突变明显相关,故称激活突变,主要有:外显子 19 的缺失、外显子 21 的 L858R 点突变、外显子 18 的 G719S 点突变

收稿日期:2011-06-08;修回日期:2011-11-12

变以及外显子 20 的 770 插入突变。在我国,NSCLC 患者总的 EGFR 激活突变率为 30%~50%,其中超过 50%是不吸烟患者发生的腺癌和支气管肺泡癌^[1]。

1.1 耐药突变

许多对 EGFR-TKI 耐药的患者都发现了 EGFR 突变,即耐药突变,主要包括 T790M 突变、K-ras 突变。Pao 等^[2]报道了 EGFR T790M 突变;通过对肿瘤组织进行 EGFR 基因检测,结果发现了二次突变,EGFR20 外显子的酪氨酸激酶区 790 位苏氨酸被蛋氨酸取代,导致酪氨酸激酶区出现空间位阻,妨碍了 TKI 与 EGFR 的结合,但是不会影响 EGFR 的正常活性,因而引起 EGFR-TKI 耐药。有关这一突变的进一步研究表明,还可能通过增加酪氨酸激酶与 ATP 的亲和力引起耐药^[3]。此后,又有研究发现其实 T790M 突变在患者接受 EGFR-TKIs 治疗以前就存在^[4]。这些研究提示 T790M 突变的肿瘤细胞有生存优势,接受 EGFR-TKIs 治疗后由于药物的选择作用,呈现优势生长,导致耐药。15%~30%的 NSCLC 患者有 K-ras 突变,而且在吸烟相关的肿瘤患者中更加普遍。K-ras 突变引起 Raf/MAPK 的上调,传递多种通路信号,从而抵抗 EGFR-TKI 的作用。通过对接受 EGFR-TKI 治疗的 60 例肺腺癌患者肿瘤组织中 K-ras 和 EGFR 基因突变分析,发现 38 例耐药的患者中 9 例存在 K-ras 突变(24%),而 22 例对 EGFR-TKI 敏感的患者中无 1 例存在 K-ras 突变,提示 K-ras 突变与 EGFR-TKI 耐药相关,K-ras 和 T790M 突变可能是吉非替尼和厄洛替尼原发耐药的标志物^[5]。

1.2 EGFR 结构性活化

EGFRvⅢ的高表达导致 EGFR 信号结构性活化是一个已经确认的耐药机制。这个 EGFR 变体缺乏胞外配体结合域,但是自身结构性活化,具有下游信号传导的持续活性。50%多形性胶质母细胞瘤高表达 EGFR,其中 40%表达 EGFRvⅢ,其对吉非替尼耐药,需要提高剂量和延长使用时间才能降低 EGFRvⅢ的活性^[6]。该研究分析了表达 EGFR 和 EGFRvⅢ的两个细胞系细胞周期的不同,发现 EGFR 细胞系的 DNA 合成能以剂量依赖方式被吉非替尼抑制,而 EGFRvⅢ细胞系则不受抑制。此外,EGFRvⅢ细胞系 AKT 活性增高,而且不受吉非替尼治疗影响。AKT 是 EGFR 通过 PI3K-AKT 途径传导细胞信号的关键点,活化的 AKT 通过磷酸化下游许多靶蛋白而介导生物学活性,促进肿瘤细胞的增殖,抑制凋亡,从而引起耐药。

1.3 PI3K-AKT/PKB 途径的旁路激活

PI3K-AKT/PKB 和 RAS/RAF/MEK/ERK 途径是 EGFR 传导细胞信号的两条主要途径,EGFR-TKI 应用后,可能继发多种细胞因子的表达和活性改变,通过旁路途径激活 PI3K-AKT/PKB 途径而引起 EGFR-TKI 耐药。

2 胰岛素样生长因子 1 受体

胰岛素样生长因子 1 受体(IGF-1R)在肿瘤细胞中广泛表达,在肿瘤细胞增殖、分化、凋亡和转移中发挥作用^[7]。IGF-1R 与肿瘤细胞对 EGFR 抑制剂 AG1478 耐药有显著相关性。通过分析 EGFR 蛋白表达水平相同,而对 AG1478 敏感性截然不同的 2 个原发多形性胶质母细胞瘤细胞系,发现 IGF-1R 上调导致了 PI3K-AKT 信号和核糖体蛋白 s6 激酶持续激活^[8]。此外,胰岛素样生长因子结合蛋白(IGF-BP)进一步加重吉非替尼的继发性耐药^[9]。对用 A431 细胞系建立吉非替尼耐药模型进行研究,发现吉非替尼耐药克隆表现出 IGF-1R 过度磷酸化和 IGF-1 与 PI3K 的持续结合。阻断 IGF-1R 信号能打破这个复合体,恢复吉非替尼下调 PI3K/AKT 信号和抑制细胞生长的作用。还有研究认为磷酸化 IGF-1R 活性增强可能与结肠癌对吉非替尼耐药的机制有关^[10]。

3 蛋白酪氨酸磷酸酶基因、C-MET 与 Her-2

功能性 PTEN 的失活普遍存在一些肿瘤中。研究发现^[11,12]缺乏 PTEN 蛋白的人 NSCLC 细胞株 H157 对 EGFR-TKI 耐药,而野生型人 NSCLC 细胞株 H1355 对 EGFR-TKI 敏感,提示 PTEN 失活参与了 EGFR-TKI 耐药形成,具体的机制可能就是通过对 PI3K/AKT 旁路途径的激活。Engelman 等^[13]观察到仅在吉非替尼敏感的 NSCLC 细胞中出现 AKT 的减少。通过免疫沉淀分析 PI3K,发现吉非替尼敏感的 NSCLC 细胞系 PI3K 特异性地结合 Her-2,吉非替尼能中断这种结合活性;而在吉非替尼耐药细胞系中则没有这种现象,该研究揭示了 Her-2 在吉非替尼耐药的 EGFR 突变肺癌细胞系中的重要性。C-MET 在正常组织中很少表达,肺腺癌患者则有 67%为过度表达^[14],Turke 等^[15]发现通过 C-MET 扩增,进而活化 Her-2-PI3K-AKT 途径,可导致 HCC827 肺癌细胞系对 EGFR-TKI 耐药。除了 C-MET 扩增,C-MET 的配体——肝细胞生长因子(HGF)过表达也参与了吉非替尼继发性耐药的产生。Yano 等^[16]报道了一组 EGFR-TKI 耐药的肺腺癌,基因检测发现有 EGFR 激活突变,而无 T790M 突变和 C-MET 扩增,但 HGF 表达显著增高,同时 C-MET 活性也显著升高。这一发现提示,HGF 分泌增加可能是吉非替尼耐药的一个新机制。

4 VEGF/VEGFR 表达异常

血管生成在肿瘤的发生、发展和转移中都发挥着重要的作用。Viloria-Petit 等^[17]通过小鼠异种皮移植获得的高表达 EGFR 的 A431 肿瘤细胞株,发现异种移植导致的肿瘤用 3 种不同的 EGFR 封闭抗体(MR3、HR3 和西妥昔单抗)治疗后肿瘤均迅速消失;出现肿瘤复发后,MR3 和 HR3 治疗组表现出加速生长和对 HR3、MR3 反应减弱,这些细胞中可以检测出 VEGF 表达的增加。而且,A431 亲代细胞转染 VEGF 后导致了对 EGFR 抗体的体内耐药。这些报道表明,肿瘤 VEGF 分泌增加可能导致 EGFR-TKI 治疗耐药。Bianco 等^[18]报道,VEGFR1 在吉非替尼耐药细胞中过表达,通过试验封闭 VEGFR1 恢复

了敏感性,而外源性给予 VEGFR1 使得吉非替尼敏感细胞转变为耐药。总体来说,两类 EGFR 抑制剂治疗均改变了 VEGF 的分泌,通过旁路途径促进新生血管生成导致耐药。

5 其 他

上皮细胞—间质转化同样参与小分子 EGFR-TKI 的耐药机制。Fuchs 等^[19]报道了 12 例肝细胞癌分成上皮细胞来源或间叶细胞来源,两类细胞表现出对 EGFR-TKI 不同的敏感性。上皮细胞来源者对吉非替尼、厄洛替尼和西妥昔单抗敏感性较间叶细胞来源者高,而间叶细胞来源者则多表现为耐药。作者进一步报道了间叶细胞 AKT 和 STAT3 活性增加,使得整合素连接激酶表达增多,引起耐药。

研究表明属于 ATP 结合盒式转运蛋白(ABC)的药泵激活可导致药物经细胞膜外排,其中 ABCG2 蛋白的突变可以将吉非替尼泵出细胞外,从而降低肿瘤细胞中的有效药物浓度从而产生对吉非替尼的耐药^[20]。当肿瘤细胞长期暴露在吉非替尼中,吉非替尼可使 ABCG2 和 ABC 转运 P 蛋白激活,从而产生吉非替尼耐药。其具体机制可能是:①药物转运蛋白的活化,将细胞内药物排出胞外;②降低药物活化或增强细胞内药物解毒作用;③药物靶点的改变和损失靶点的修复增强;④细胞凋亡抑制和细胞周期停滞。故药物转运蛋白在多药耐药性中起了主要作用。

此外,鞠立霞等^[21]通过建立吉非替尼耐药的 NSCLC 细胞株 PC9/AB2 进行的研究,认为整合素 β_1 水平升高及其相关的肿瘤细胞黏附、迁移能力的提高可能与 EGFR-TKI 耐药相关。

6 结 语

肿瘤的分子靶向治疗是近年发展起来的一种全新治疗方向。与传统的化疗相比,EGFR-TKI 治疗具有显著的优势,已经成为晚期 NSCLC 患者的一种有效治疗方案,显著改善了患者的预后。但是其耐药现象也已成为了限制其应用的主要障碍,通过联合应用 VEGF 抑制剂、IGF-1R 抑制剂等其他信号传导通路的抑制剂可以提高 EGFR-TKI 疗效。然而到目

前为止,也没有一种理论能系统解释 EGFR-TKI 的耐药机制。有关 EGFR-TKI 耐药机制和对 EGFR-TKI 疗效预测指标的研究以及如何克服耐药,仍将是今后肿瘤研究领域的热点。

参考文献:

- [1] 胡胜,宋启斌.非小细胞肺癌的靶向性治疗[J].中国肿瘤,2006,16(7):457-461.
- [2] Pao W, Miller VA, Politi KA, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain[J]. *PLoS Med*, 2005, 2(3): e73.
- [3] Yun CH, Mengwasser KE, Toms AV, et al. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(6): 2070-2075.
- [4] Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, et al. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(24): 8919-8923.
- [5] Pao W, Wang TY, Reily GJ, et al. KRAS mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib and erlotinib [J]. *PLoS Med*, 2005, 2(1): e17.
- [6] Learn CA, Hartzell TL, Wikstrand CJ, et al. Resistance to tyrosine kinase inhibition by mutant epidermal growth factor receptor variant III contributes to the neoplastic phenotype of glioblastoma multiforme [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(9): 3216-3224.
- [7] Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(12): 915-928.
- [8] Chakravarti A, Loeffler JS, Dyson NJ. Insulin-like growth factor receptor I mediates resistance to anti-epidermal growth factor receptor therapy in primary human glioblastoma cells through continued activation of phosphoinositide 3-kinase signaling[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(1): 200-207.
- [9] Guix M, Faber AC, Wang SE, et al. Acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in cancer cells is mediated by loss of IGF-binding proteins [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(7): 2609-2619.
- [10] 祝艳华,张阳,韩秀敏,等.吉非替尼耐药人结肠癌细胞系 HT-29/ZD 的建立及其耐药机制探讨[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2007,14(2):148-152.
- [11] Forgacs E, Biesterveld E J, Sekido Y, et al. Mutation analysis of the PTEN/MMAC1 gene in lung cancer [J]. *Oncogene*, 1998, 17(12): 1557-1565.

- [12] Bianco R, Shin I, Ritter CA, et al. Loss of PTEN/MMAC1/TEP in EGF receptor-expressing tumor cells counteracts the antitumor action of EGFR tyrosine kinase inhibitors [J]. *Oncogene*, 2003, 22(12):2812–2822.
- [13] Engelman JA, Jänne PA, Mermel C, et al. ErbB-3 mediates phosphoinositide 3-kinase activity in gefitinib-sensitive non-small cell lung cancer cell lines [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(10):3788–3793.
- [14] Cipriani NA, Abidoye OO, Vokes E, et al. MET as a target for treatment of chest tumors [J]. *Lung Cancer*, 2009, 63(2):169–179.
- [15] Turke AB, Zejnullahu K, Wu YL, et al. Preexistence and clonal selection of MET amplification in EGFR mutant NSCLC [J]. *Cancer cell*, 2010, 17(1):77–88.
- [16] Yano S, Wang W, Li Q, et al. Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor-activating mutations [J]. *Cancer Res*. 2008, 68(22): 9479–9487.
- [17] 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.
- [18] Bianco R, Rosa R, Damiano V, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-1 contributes to resistance to anti-epidermal growth factor receptor drugs in human cancer cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(16): 5069–5080.
- [19] 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.
- [20] Suda K, Onozato R, Yatabe Y, et al. EGFR T790M mutation: a double role in lung cancer cell survival? [J]. *J Thorac Oncol*, 2009, 4(1):1–4.
- [21] 鞠立霞, 周彩存, 唐亮, 等. 吉非替尼获得性耐药的非小细胞肺癌细胞株 PC9/AB2 相关耐药机制研究 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2010, 33(5): 354–358.