

表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂的获得性耐药机制

Acquired Resistance Mechanism of Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor // HU Wei-guo, SONG Qi-bin

胡伟国, 宋启斌

(武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

摘要:表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)在肺癌治疗领域的应用备受关注,其优势人群是有 *EGFR* 突变的患者。然而大多数起始有效的患者经过约 6~12 个月治疗后会产生获得性耐药现象,其主要的耐药机制包括 *EGFR* 二次突变和“激酶转换”机制。*EGFR* T790M 突变占有耐药的 50%, *c-Met* 扩增占有获得性耐药的 20% 左右。其他一些“激酶转换”机制如 *IGFR-1* 和 *mTOR* 均逐渐进入临床前研究。联合应用多种信号通路抑制剂可能是克服 EGFR-TKI 获得性耐药的有效方法。全文主要对以上进行综述。

关键词:表皮生长因子受体;酪氨酸激酶抑制剂;耐药;靶向治疗

中图分类号:R73 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2012)12-0917-03

近十年来分子生物学的飞速发展使肿瘤治疗学产生了一种新的治疗方法——分子靶向治疗。在此基础上开发出了一系列分子靶向药物,如贝伐单抗、厄洛替尼、吉非替尼等。其中表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI) 在肺癌领域的应用备受关注。*EGFR* 19 外显子的缺失突变及 21 外显子的点突变约占酪氨酸激酶区突变的 90%, 含有这些突变的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者对 TKI 的敏感性超过 70%, 然而 TKI 初始治疗有效的患者中位进展期为 6~12 个月^[1], 提示这些使用 TKI 治疗的患者存在获得性耐药现象, 现将其耐药机制概述如下。

1 *EGFR* T790M 突变

T790M 二次突变导致 EGFR-TKI 获得性耐药最先由达纳法伯哈佛癌症中心和纪念斯隆凯瑟琳癌症中心于 2005 年同时报道^[2,3], 这两个研究小组均对 TKI 治疗后复发的肺癌组织标本进行了分析, 发现除了最初的 19 外显子缺失外, 又发生了 20 外显子 T790M 点突变从而导致 *EGFR* 重新被激活。酪氨酸激酶结构域存在一些共同性, 如 T790M 类似于慢性髓系白血病的 T315I 和胃肠间质瘤的 T670I^[4]。体外

实验发现, 对含有 T790M 的细胞来说, TKI 起效的浓度超过 5 μmol/L, 这个浓度超过敏感细胞(19 外显子缺失或 L858R-EGFR) 的 100 倍以上^[5]。一些 *EGFR* 突变的 NSCLC 细胞系, 如 H3255 和 PC-9, 在体外培养时用浓度递增的吉非替尼处理, 最终均发生 T790M 突变^[6,7]。存在 L858R-T790M 的小鼠肺癌模型也证实对吉非替尼和厄洛替尼耐药^[8]。这些数据证明 T790M 二次突变是 EGFR-TKI 获得性耐药的主要机制之一。*EGFR* T790M 二次突变约占 TKI 获得性耐药患者的 50%, 其他二次突变如 D761Y、L747S、T854A 均较少见, T790M 和性别、吸烟状态和病理表现等人群特征并无关联。关于 T790M 的来源有选择模型和获取模型两种学说, 最初的文献报道认为肿瘤最开始并无 T790M 突变, 在使用 TKI 类药物治疗后逐渐出现 T790M 突变, 即获取模型; 然而最近研究发现未经 EGFR-TKI 治疗的肺癌患者中用标准测序法也可以检测到 T790M 突变, 可能随着 EGFR-TKI 药物治疗时间的延长而发生选择性克隆增长, 即选择模型^[9,10]。达纳法伯哈佛癌症中心的研究小组用芯片法捕捉 *EGFR* 突变患者外周血中的循环肿瘤细胞, 发现有 38% 患者在治疗前就存在 T790M 突变, 但有趣的是, 必须用敏感的 PCR 方法且增加扩增循环数才可能检测到这些突变, 说明 T790M 仅存在于少许原始肿瘤细胞中。这些 T790M 突变细胞的存在预示着 EGFR-TKI 维持疗效的时间

较短^[11]。

然而 T790M 是如何影响 TKI 的敏感性仍不很清楚。最初人们根据 EGFR 激酶域的晶体结构推测, T790M 甲硫氨酸残基改变了激酶的 ATP 结合区, 从而阻断 TKI 和 EGFR 催化域中 ATP 位点的结合而成为获得性耐药。然而最近研究发现, T790M 很少影响 TKI 与 L858R-EGFR 的结合。相反, L858R-T790M-EGFR 对 ATP 的亲和力更高, 从而抑制了 TKI 的结合力, 因为 TKI 是 ATP 激酶的竞争性抑制剂^[12]。目前研究的第二代 EGFR-TKI 不可逆性酪氨酸激酶抑制剂正逐渐被推向临床, 不可逆的小分子 EGFR 抑制剂以共价键结合于 EGFR 催化域 ATP 结合位点边缘的 cys-797。由于第二代 EGFR-TKI 药物与 EGFR 的结合方式与传统 EGFR-TKI 药物点共价结合的方式不同, 有希望克服 T790M 突变导致的获得性耐药。

但 T790M 突变似乎不能解释所有病例的 EGFR-TKI 耐药现象, 在 EGFR-TKI 治疗有效但治疗后复发的 NSCLC 患者中, 检测 *EGFR* 20 外显子的二次突变, 发现只有部分阳性, 另外一些耐药患者并未检出该突变^[13], 提示除了 T790M 突变外还存在一些其他机制参与 EGFR-TKI 获得性耐药。

2 其他二次突变

在 T790M 之外报道的 EGFR-TKI 耐药二次突变有 D761Y 和 L747S, 体外实验均发现携带这两种突变的细胞对吉非替尼耐药, 然而其耐药程度不如 T790M 突变。这些非 T790M 突变的耐药机制仍不清楚, 可能是通过影响 L858R-EGFR 的活性或非活性构型继而影响与吉非替尼的结合起作用。一个很有趣的体外实验发现, 随着吉非替尼或厄洛替尼剂量的增加, 可以克服 L747S 和 D761Y 导致的耐药。最近还有报道发现 T854A 突变导致 TKI 耐药, 然而, 总体来说, 这些非 T790M 突变的概率不足 5%^[14-16]。

3 *c-Met* 扩增

一些应用 TKI 类药物治疗的恶性肿瘤可以通过“激酶转换”机制产生获得性耐药, 例如胃肠间质瘤对伊马替尼的反应依赖 *KIT* 突变, 而肿瘤细胞可以转换至 *AXL* 基因激活下游信号通路, 从而对伊马替尼耐药^[17]。*EGFR* 突变的肿瘤中也存在这种类似

的转换机制。2007 年, 两个研究小组均发现 *c-Met* 扩增是 TKI 耐药的另一个原因。吉非替尼/厄洛替尼获得性耐药患者的肿瘤标本中有 22% 的患者检测出 *c-Met* 的扩增, 检测服药前后配对肿瘤标本发现部分患者的 *c-Met* 扩增在治疗前是不存在的, 而出现在吉非替尼/厄洛替尼获得性耐药之后^[18,19]。

c-Met 扩增可见于胃癌和食管癌, 但是在未经治疗的肺癌患者中少见, 肺癌中常见的是 *Met* 的表达和突变^[20,21]。*EGFR* 突变患者用吉非替尼或厄洛替尼治疗后发生获得性耐药的病例中, 大约 20% 存在野生型 *c-Met* 获得性扩增, 可独立于 T790M 存在, 提示 *c-Met* 基因扩增在 NSCLC 获得性耐药中发挥重要作用。检测 *c-Met* 扩增的方法有 FISH 和定量 DNA 分析法, 这两种方法并未进行头对头的比较, 因此也不清楚这些检测方法对检出率有无影响^[18]。

c-Met 可以联合其他 *ErbB* 家族成员, 尤其是 *ErbB3*, 介导 PI3K/Akt 激活下游信号通路, 从而绕过 EGFR-TKI 的作用靶点。通过 RNA 干扰技术抑制 *c-Met* 可以恢复对吉非替尼的敏感性^[18]。在发生 *c-Met* 扩增的肿瘤组织中, 几乎有一半可以检测到 T790M。一些原发性耐药肿瘤中也可以检测到 *c-Met* 扩增, 可能是吉非替尼治疗后选择性克隆生长的结果。*EGFR* T790M 和 *c-Met* 扩增常常同时存在, 40% 的肺癌获得性耐药标本既含有 *EGFR* T790M 突变又有 *c-Met* 扩增。因此, 部分 TKI 获得性耐药患者治疗时, 需要同时应用 *c-Met* 抑制剂和不可逆 TKI, 以同时兼顾两种耐药机制^[22]。

4 其他“激酶转换”机制导致的获得性耐药

依赖 *EGFR* 突变的肺癌还可以通过其他一些“激酶转换”机制产生获得性耐药。胰岛素样生长因子受体-1 (IGFR-1) 是 *EGFR* 信号旁路上的激酶受体, IGFR-1 与配体 IGF- I / II 结合后可以激活酪氨酸激酶, 继而启动两条信号传递链: Ras/MAPK 和 PI3K/AKT 信号通路, 这两条通路激活后进一步促进细胞生长。因此 IGFR-1 过表达可以通过激活下游信号通路从而绕过 EGFR。研究显示 NSCLC 患者中 *EGFR* 与 IGFR-1 的同时高表达, 可以导致患者对 EGFR-TKI 继发性耐药。因此, IGFR-1 过表达可能是 EGFR-TKI 获得性耐药的途径之一。若在耐药细胞中同时抑制 EGFR 和 IGFR-1, 则可以阻断 PI3K 信

号通路,恢复耐药细胞对 EGFR-TKI 的敏感性。已有研究显示,抑制 IGFR-1 信号通路能提高吉非替尼的疗效。联合抑制 EGFR 和 IGFR-1 可阻止 EGFR-TKI 获得性耐药的产生^[23]。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是一种控制细胞增殖和血管生成的重要激酶,属于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的下游关键分子。mTOR 激活与 EGFR 获得性耐药有关,单独或联合应用 mTOR 抑制剂依维莫司 (everolimus, RAD001) 和吉非替尼或西妥昔单抗,分别作用于对 EGFR 敏感或耐药的肿瘤细胞,结果发现依维莫司可抑制耐药细胞生长,并可部分恢复 EGFR 抑制剂的抗肿瘤效果^[24]。因此联合应用 EGFR 和 mTOR 抑制剂可防止 EGFR-TKI 获得性耐药。

5 结 语

在晚期 NSCLC 治疗领域,EGFR-TKI 无疑占据着举足轻重的地位。然而大多数起始有效的患者经过约 6~12 个月治疗后会产生产获得性耐药现象。其主要的耐药机制包括 EGFR 二次突变和“激酶转换”机制。EGFR T790M 突变占有耐药的 50%,其他耐药性二次突变率较低,c-Met 扩增占获得性耐药的 20%左右,而其中一半合并存在 T790M 突变。其他一些“激酶转换”机制如 IGFR-1 和 mTOR 均逐渐进入临床前研究。联合应用多种信号通路抑制剂可能是克服 EGFR-TKI 获得性耐药的有效方法。

参考文献:

- [1] Janne PA. Challenges of detecting EGFR T790M in gefitinib/erlotinib resistant tumours[J]. Lung Cancer, 2008, 60 (Suppl 2):s3-s9.
- [2] Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, et al. EGFR mutation and resistance of non-small cell-lung cancer to gefitinib[J]. N Eng J Med, 2005, 352(8): 786-792.
- [3] Pao W, Miller V, Politi K, 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): 73.
- [4] Carter TA, Wodicka LM, Shah NP, et al. Inhibition of drug-resistant mutants of ABL, KIT, and EGF receptor kinases[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(31): 11011-11016.
- [5] Avizienyte E, Ward RA, Garner AP. Comparison of the EGFR resistance mutation profiles generated by EGFR targeted tyrosine kinase inhibitors and the impact of drug combinations[J]. Biochem J, 2008, 415(2): 197-206.
- [6] Engelman JA, Mukohara T, Zejnullahu K, et al. Allelic dilution obscures detection of a biologically significant resistance mutation in EGFR-amplified lung cancer [J]. J Clin Invest, 2006, 116(10): 2695-2706.
- [7] Ogino A, Kitao H, Hirano S, et al. Emergence of epidermal growth factor receptor T790M mutation during chronic ex-

- posure to gefitinib in a non small cell lung cancer cell line[J]. Cancer Res, 2007, 67(16): 7807-7814.
- [8] Li D, Shimamura T, Ji H, et al. Bronchial and peripheral murine lung carcinomas induced by T790M L858R mutant EGFR respond to HKI-272 and rapamycin combination therapy[J]. Cancer Cell, 2007, 12(1): 81-93.
- [9] Toyooka S, Kiura K, Mitsudomi T. EGFR mutation and response of lung cancer to gefitinib [J]. N Engl J Med, 2005, 352(20): 2136.
- [10] Bell DW, Gore I, Okimoto RA, et al. Inherited susceptibility to lung cancer may be associated with the T790M drug resistance mutation in EGFR [J]. Nat Genet, 2005, 37(12): 1315-1316.
- [11] Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lungcancer cells [J]. N Engl J Med, 2008, 359(4): 366-377.
- [12] 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 U S A, 2008, 105(6): 2070-2075.
- [13] Kobayashi S, Ji H, Yuza Y, et al. An alternative inhibitor overcomes resistance caused by a mutation of the epidermal growth factor receptor [J]. Cancer Res, 2005, 65(16): 7096-7101.
- [14] Toyooka S, Date H, Uchida A, et al. The epidermal growth factor receptor D761Y mutation and effect of tyrosine kinase inhibitor[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(11): 3431-3432.
- [15] Costa DB, Schumer ST, Tenen DG, et al. Differential responses to erlotinib in epidermal growth factor receptor (EGFR)-mutated lung cancers with acquired resistance to gefitinib carrying the L747S or T790M secondary mutations[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(7): 1182-1184.
- [16] Bean J, Riely GJ, Balak MN, et al. Acquired resistance to epidermal growth factor receptor kinase inhibitors associated with a novel T854A mutation in a patient with EGFR-mutant lung adenocarcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(22): 7519-7525.
- [17] Mahadevan D, Cooke L, Riley C, et al. A novel tyrosine kinase switch is a mechanism of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors[J]. Oncogene, 2007, 26(27): 3909-3919.
- [18] Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling [J]. Science, 2007, 316(5827): 1039-1043.
- [19] Bean J, Brennan C, Shih JY, et al. MET amplification occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(52): 20932-20937.
- [20] Smolen GA, Sordella R, Muir B, et al. Amplification of MET may identify a subset of cancers with extreme sensitivity to the selective tyrosine kinase inhibitor PHA-665752[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(7): 2316-2321.
- [21] Miller CT, Lin L, Casper AM, et al. Genomic amplification of MET with boundaries within fragile site FRA7G and upregulation of MET pathways in esophageal adenocarcinoma[J]. Oncogene, 2006, 25(3): 409-418.
- [22] Yoshida T, Zhang GL, Haura EB, et al. Targeting epidermal growth factor receptor: central signaling kinase in lung cancer[J]. Biochem Pharmacol, 2010, 80(5): 613-623.
- [23] 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.
- [24] Bianco R, Garofalo S, Rosa R, et al. Inhibition of mTOR pathway by everolimus cooperates with EGFR inhibitors in human tumours sensitive and resistant to anti-EGFR drugs [J]. Br J Cancer, 2008, 98(5): 923-930.