

EGFR突变的非小细胞肺癌耐药机制及其克服新策略

彭 晖

[摘要] 表皮生长因子受体(EGFR)突变的非小细胞肺癌(NSCLC)已被列为一个与临床相关的、独特的肺癌亚群。虽然 EGFR 突变的肿瘤患者增加了对酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的敏感性,但其耐药仍然是一个主要的临床问题。针对原发和获得性耐药不同的分子机制,包括应用第 2 代或第 3 代 TKI, 以及与 EGFR 下游信号通路抑制剂的组合用药等多项临床试验已经在启动和计划中。本文综述了近年来 EGFR 突变的 NSCLC 耐药机制的新进展和克服耐药的新策略。

[关键词] 表皮生长因子受体; 突变; 非小细胞肺癌; 酪氨酸激酶抑制剂; 耐药

[中图分类号] R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1674-0440(2011)02-0096-09



彭 晖, 博士, 军事医学科学院基础医学研究所副研究员。长期从事计算机辅助药物设计、肿瘤耐药分子机制以及逆转研究。主持国家自然科学基金、863 子课题和天津市应用基础研究重点项目以及“十一五”军队新药创制科技重大保密专项等多项课题。获得 8 项中国专利, 申请 4 项中国和 2 项美国专利, 发表 75 篇署名学术论文, 其中 SCI 文章 20 篇。曾获得天津市科技进步一、二、三等奖各 1 项。

Mechanisms and new strategies on drug resistance of EGFR-mutant non-small cell lung cancer

PENG Hui

(Institute of Basic Medical Science, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

[Abstract] Epidermal growth factor receptor (EGFR)-mutant non-small cell lung cancer (NSCLC) has been defined as a distinct subset of lung cancer in the clinic. Although EGFR-mutant tumours most often display more sensitivity to tyrosine kinase inhibitor (TKI), clinical resistance to them remains a major problem. Based on the different molecular mechanisms of primary and acquired resistance, multiple clinical trials of the second or third-generation EGFR TKI and drug combinations with inhibitors targeting to EGFR downstream protein have been initiated and are being planned. This review summarizes recent progress in mechanisms and new overcoming strategies on better treatment of drug resistant cancer cells in EGFR-mutant NSCLC.

[Key words] epidermal growth factor receptor; mutant; non-small cell lung cancer; tyrosine kinase inhibitor; drug resistance

肺癌是美国肿瘤死亡的头号杀手, 据估计在 2010 年占有所有男性肿瘤死亡患者的 29% 和女性患者的 26%, 发生转移患者的 5 年总生存率不足 15%^[1]。肺癌也是我国位居首位的恶性肿瘤, 其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占肺癌患者的 80% 以上, 提高此类疾病的治疗反应率、延长患者的生存时间和建立新的治疗方式就显得十分重要。

据报道, 40%~80% 的 NSCLC 患者过度表达表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)^[2]。靶向治疗纳入 NSCLC 的治疗是一

个逐步发展的模式。目前用于治疗 NSCLC 的 EGFR 靶向药物有西妥昔单抗(cetuximab)、吉非替尼(gefitinib)和厄洛替尼(erlotinib)。靶向药物的应用已经证实, 特定的 NSCLC 临床和分子学特征与 EGFR 抑制作用的应答相关, 尤其是体细胞获得性功能突变的患者。酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)应当有选择地用于具有某些生物学特征的患者。2004 年首次报道 EGFR 激酶域突变的肿瘤显现出腺癌的组织学特征, 对吉非替尼和厄洛替尼具有高度敏感性, 比野生型具有更好的预后效果。据相关研究显示, 其有效率高达 70%~80%, 中位生存期 20~30 个月^[3-5]。不幸的是, 最终仍会出现 TKI 耐药导致肿瘤恶性发展。图 1 列出近年 EGFR 突变与临床

基金项目: 国家自然科学基金项目(30873083)

作者单位: 100850 北京, 军事医学科学院基础医学研究所四室(彭晖), Tel: 010-66932339, E-mail: P_h2002@hotmail.com

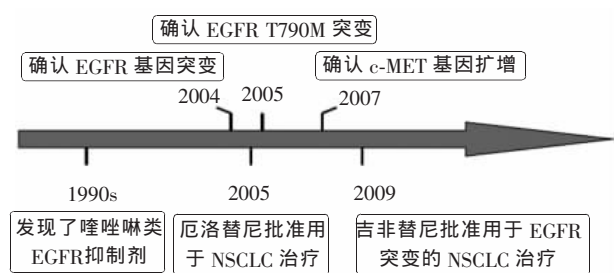


图 1 EGFR 突变和临床治疗的相关事件和时间点

治疗相关的重要事件和时间点。本篇综述主要讨论带有 EGFR 突变的 NSCLC 的耐药机制,以及克服靶向治疗耐药的新策略和方法。

1 EGFR 突变患者靶向治疗的临床表现

过去 5 年中至少有 9 个前瞻性单臂临床试验(prospective single-arm)证实了带有 EGFR 激活突变的 NSCLC 晚期患者受益于表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)的治疗^[6]。第 1 代抑制剂吉非替尼或厄洛替尼在东亚、美国和欧洲进行了临床试验。EGFR 突变患者反应率为 55%~91%,无进展生存期(PFS)和肿瘤恶化时间(TTP)为 7.7~13.3 个月。相比之下,未经挑选的、吉非替尼和厄洛替尼治疗的 NSCLC 患者的反应率为 8.0%~8.9%,中位 TTP 时间为 2.2~3 个月。

2009 年,2 个具有里程碑意义的随机前瞻性期临床试验(IPASS 和 WJTOG3405)表明,在 EGFR 突变肺癌治疗中,EGFR-TKI 的疗效优于化疗药^[7-8]。IPASS 研究包含了从未吸烟和轻度吸烟的东亚肺癌患者,接受吉非替尼治疗的 EGFR 突变患者的 PFS 明显长于接受卡铂和紫杉醇联合治疗组,而野生型 EGFR(突变阴性)患者联合化疗组的 PFS 明显延长。WJTOG3405 研究专门收纳了带有 EGFR 突变的日本肺癌患者,吉非替尼组中位 PFS 为 9.2 个月,明显长于顺铂和多西他赛联合治疗组的 6.3 个月。基于以上的临床结果,2009 年欧盟人用药品委员会批准吉非替尼用于 EGFR 突变阳性的局部晚期和转移性 NSCLC 的各线治疗。厄洛替尼也同样被证明对于 EGFR 突变的患者是非常有效^[9]。

最近,EGFR 突变患者的随机前瞻性临床期试验(NEJ002)证实,与化疗相比,吉非替尼的一线用药获得了良好的收益,而且提示治疗中用药顺序的重要性^[10]。不同于以往的研究,95%卡铂+紫杉醇一线用药患者的疾病恶化程度超过了

吉非替尼治疗组。令人意想不到的是,吉非替尼组中位生存期比化疗组延长了 7 个月(分别为 30.5 个月和 23.6 个月)。而吉非替尼的二线用药反应率稍逊于一线的反应率(58.5%比 73.7%)。

吉非替尼和厄洛替尼一线用药能否达到化疗组同样的药效,目前还不清楚。间接数据表明两者对 EGFR 突变患者治疗效果没有很大差别。这两种药物只是使用的剂量不同,厄洛替尼采用最大耐受剂量,而吉非替尼不是。体外实验中,它们对 EGFR 突变的细胞均显示出相似的强力杀伤作用^[11]。患者对两种药物的原发性和获得性耐药的主要机制也是相同的,表明都具有相同的靶标。许多临床报道也证实了两者用药后观察到相似的反应、PFS 和存活率^[8-12]。

与 EGFR 突变和 EGFR-TKI 之间关联性相比,EGFR 突变对于 EGFR 特异性抗体的敏感性目前尚不清楚。西妥昔单抗是一种人鼠嵌合 IgG1 单克隆抗体,结合 EGFR 胞外域并阻断 EGFR 信号。该抗体已被 FDA 批准用于大肠癌和头颈癌的治疗,但其在 NSCLC 中的疗效仍有待确定,对于先前治疗过的 NSCLC 患者,单臂期临床试验显示反应率只有 4.5%,尽管该单抗显现出很有前景的辅助化疗的效果,但是两个期临床试验(FLEX 和 BmS099)表现出相互矛盾的总生存期结果^[13-14]。目前对有限患者的研究提示 EGFR 突变和西妥昔单抗敏感性之间没有相关性。西妥昔单抗能干扰 EGFR 配体结合和随后的二聚化作用,而 EGFR 突变赋予配体的相对独立性可能会抵消抗体的功效。有趣的是,在带有 EGFR-L858R(外显子 21)突变的小鼠肺癌体内实验中,西妥昔单抗可诱导肿瘤显著衰退,但对外显子 19 缺失或 T790M 突变的肿瘤却无效^[15]。造成这种矛盾的原因还未知,可能与不同突变体的不同结构或构象有关。

2 EGFR 突变体生物学特征

肺癌中 EGFR 突变主要集中在胞内段编码结构域(外显子 18~21,图 2)。主要突变包括 19 外显子的缺失突变(delE746-A750),发生率约 45%;21 外显子点突变(L858R),发生率为 40%~45%;18 外显子点突变(G719X),发生率约 5%和 20 外显子插入突变(发生率约 5%)。多个基因组的研究表明,EGFR 突变的 NSCLC 是具有独特表达、突变和拷贝数的特殊疾病表型^[16,18]。例如,EGFR 突变

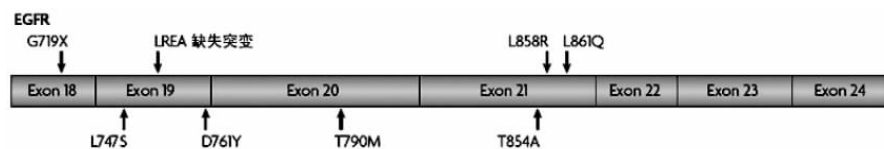


图 2 EGFR 激酶结构域中的常见突变位点

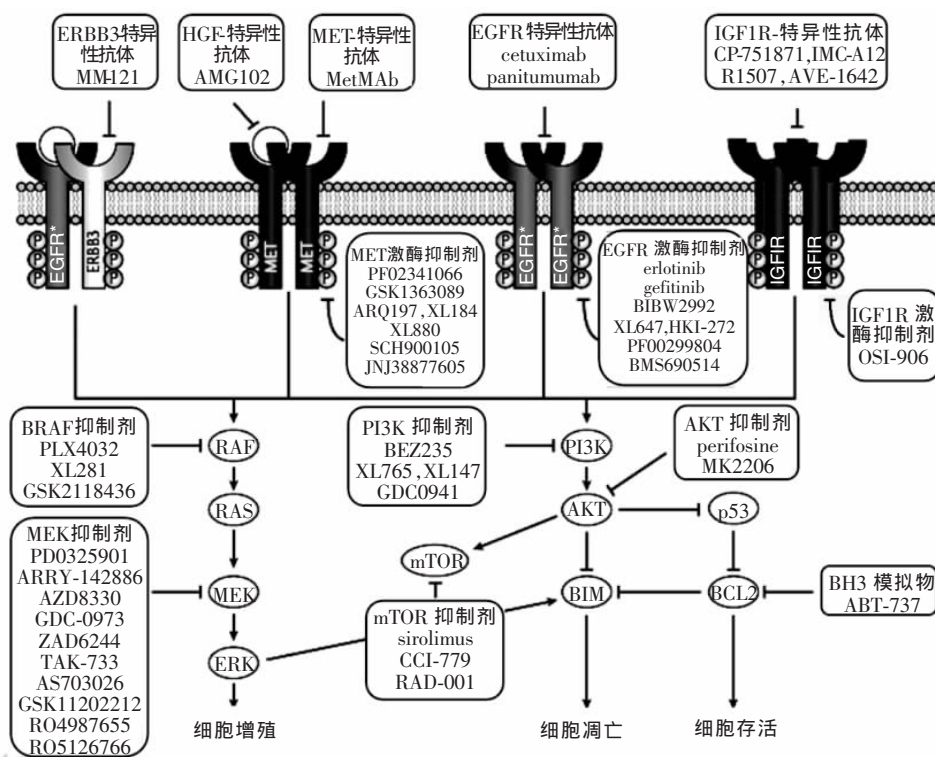
的 NSCLC 很少带有丝/苏氨酸激酶 11 (STK11, 另称为 *LKB1* 基因) 的突变, 同时缺少双特异性磷酸酶 4 (DUSP4) 和细胞周期依赖性激酶抑制基因 2A (CDKN2A) 的负调控作用^[18]。

EGFR 突变的 L858R 和 G719S 晶体结构显示, 激活域存在于 EGFR 的近膜区, L858R 突变能够将激酶锁定于活化状态, 而 L719S 突变使得激酶的非活化构象去稳定化, 导致突变后的 EGFR 长期处于过度激活状态, 因此比其野生型活性高 50 倍^[19]。虽然外显子 19 缺失突变 EGFR 晶体结构至今尚未解析, 但生化实验表明, 外显子 19 缺失与 L858R 同样能够增强 EGFR 的激酶活性。相对于野生型 EGFR, 突变使得 EGFR 优先结合吉非替尼和厄洛替尼, 而不是 ATP, 这可以解释突变的 EGFR 与 TKI 结合后激酶活性的抑制也增强的原因。这种突变改变药敏性的现象也可以用癌基因依赖 (oncogene addiction) 的学说来解决^[20]。

释^[20]。

由于 EGFR 突变引发 NSCLC 细胞内激酶信号异常, 吉非替尼和厄洛替尼等 TKI 是通过内在凋亡途径, 抑制这个信号通路, 从而介导细胞的死亡。这个过程是依靠 BCL-2 家族的促凋亡蛋白 BIM 来完成的 (图 3)^[21]。另一种受 PI3K 信号调控的抗凋亡蛋白-粒细胞白血病细胞分化蛋白 1 (MCL1) 的表达下调, 在整个进程中可能也起了重要作用^[22]。

EGFR 突变肿瘤在东亚和白种人中是否存在相似的生物学特性一直是争论的焦点。目前还没有确凿的数据表明两个群体存在很大的差异。分子水平上研究显示, 亚裔人和非亚裔人的编码激酶结构域部分的外显子序列 (外显子 18~21) 和 EGFR 药敏的突变范围极为相似。临床观察表明, 在日本和美国接受手术的 EGFR 突变患者, 其预后评价是相同的, 不同族群患者的应答率和生

图 3 EGFR 引发耐药 (原发和获得性) 的信号通路及其对应的抑制剂^[23]

注: EGFR*: EGFR 突变; panitumumab: 帕尼单抗; perifosine: 哌立福新; sirolimus: 西罗莫司。

存率也非常相似^[8,12]。

3 EGFR-TKI 的原发性耐药

即便存在一个激活的 EGFR 突变, NSCLC 也能显示出对 TKI 治疗的原发性耐药。下面阐述其近期的分子机制研究(图 3)。

3.1 EGFR 的突变

EGFR 突变的肿瘤患者中能观察到 75% 应答率, 也就是说约 25% 对于 EGFR-TKI 的治疗无效, 说明可能与 TKI 原发性耐药相关。例如, 约 5% 的 NSCLC 患者观察到外显子 20 的插入突变(如 D77-N771、NPG 插入、SVQ 插入、G 插入和 N771T), 在使用 EGFR-TKI 后会加剧病情。带有 20 外显子编码的 T790M 突变的原发性耐药患者也存在相同的情况, 也常见于获得性耐药患者中。原发性 TKI 的耐药通常是与药敏突变同时发生的其他 EGFR 突变所导致。例如, 药敏 G719C 可以与 E709A 突变同时发生, 导致原发性耐药。体外研究也证实了双突变受体对 EGFR-TKI 的敏感性比单突变体 G719C 差^[24]。

3.2 与 EGFR 突变同时发生的其他基因组改变

EGFR 的药敏突变导致 EGFR-TKI 治疗无效的另一个原因, 可能是存在影响 EGFR 下游信号的其他基因病变。例如, 大约 2% NSCLC 同时存在 PIK3CA(PI3K 的 p110 α 催化亚单位)突变与 EGFR 突变。体外实验证实, 一个组成性活化激活 PI3K 的点突变 E545K 能产生吉非替尼耐药。同样, EGFR 突变的细胞中 PTEN 的表达下调与 EGFR-TKI 敏感度降低有关。NSCLC 患者中, PTEN 基因表达丧失 (<5%), 使得 AKT 过度表达将抵抗凋亡, 进而对 EGFR-TKI 产生耐药。PTEN 的缺失与预后差、低分化、远处转移及癌症晚期有关^[25]。

EGFR 和胰岛素样生长因子 1 受体(IGF1R)之间的交互作用(crosstalk), 也是 EGFR 突变的细胞模型中的常见机制(图 3)。例如, 有些厄洛替尼作用的 EGFR 突变的细胞仅阻滞在细胞周期 G₁ 期, 但与 IGF1R 的特异性抗体一起作用时能发生凋亡, 可能的原因为厄洛替尼虽然持续下调了 EGFR 和 ERK 的磷酸化水平, 但由 IGF1R 激活的 AKT 信号通路仍照常发挥作用。另一项研究中, EGFR 突变的 NSCLC 患者坚持吉非替尼治疗后, 出现了敏感和耐药混合的细胞群体。进一步的研究表明, 这些细胞中特殊染色质状态的出现是通过 IGF1R 的信号和组蛋白脱甲基酶(赖氨酸特异

性脱甲基酶 5A, KDM5A)所共同介导^[26]。

3.3 EGFR 野生型肿瘤的耐药

野生型 EGFR 通常带有编码其他信号分子基因的体细胞突变。因此, 原发性耐药更有可能是其他基因突变的结果。15%~25% NSCLC 和几乎只有 EGFR 野生型肿瘤, 存在着 KRAS 的 GTP 水解酶结构域的第 12 号和第 13 号密码子的激活突变。这些突变与吸烟之间具有很强的相关性, 然而在不吸烟的亚裔患者中也常常观察到 EGFR 突变, 原因目前还很难解释。KRAS 基因突变的肺癌患者对 EGFR-TKI 具有耐药性已经得到了明确验证^[27]。虽然 KRAS 突变已经作为 EGFR 特异性抗体治疗大肠癌的不良预后指标之一, 但是 KRAS 突变检测还没有被广泛用于肺癌的诊断中。

约 2%~3% 的 NSCLC 还存在 BRAF 基因突变, BRAF 是位于 EGFR 信号通路下游的分子。BRAF 最常见的突变是 V600E, 存在于黑色素瘤、结肠癌和甲状腺癌的大量亚群中, 对 MEK 特异性小分子抑制剂敏感^[28]。隐含 BRAF 基因 V600E 的 NSCLC 对 MEK 抑制剂 PD0325901 很敏感, 却对 EGFR 的抑制作用有耐药性。MEK 抑制剂 PD0325901 的 I 期临床试验显示对于晚期 NSCLC 患者的效果不佳, 但是研究中并没有专门预选 EGFR 突变的患者^[29]。

另外还有 5% NSCLC 带有间变性淋巴瘤激酶(ALK)易位^[30]。到目前为止, 大部分癌基因重组都牵涉到棘皮动物微管相关蛋白样 4 和 ALK 融合基因(EML4-ALK)。多个不同的 EML4-ALK 的突变都含有 ALK 的酪氨酸激酶部分和带有可变长度的 EML4。与 KRAS 和 BRAF 的突变类似, 临床上 ALK 表达阳性肿瘤患者对 EGFR-TKI 同样不敏感。

EGFR-TKI 原发性耐药也可能由非突变的其他机制介导。例如, 作为 MET 受体酪氨酸激酶的配体, 肝细胞生长因子(HGF)的表达增加。HGF 过度激活了 MET 介导的 PI3K-AKT 通路, 降低了 EGFR-TKI 对这种信号级联反应的抑制。与获得性耐药的作用不同, 原发性耐药主要是通过 GRB2 相关结合蛋白 1(GAB1)增加 MET 的 HGF 活化, 而不是 ERBB3 的作用^[31]。

4 EGFR-TKI 的获得性耐药

尽管在 EGFR 突变的 NSCLC 患者中, 吉非替

尼和厄洛替尼可以达到很好的疗效,但均在治疗后 6~12 个月内发生获得性(继发性)耐药。随着对耐药分子和细胞机制的深入了解(图 3),目前的研究主要集中在以下方面。

4.1 EGFR 第二位点突变

带有 EGFR 突变的患者最终发展成 EGFR-TKI 获得性耐药,常常与第二位点 T790M 突变相关。50%带有厄洛替尼或吉非替尼获得性耐药的 EGFR 突变患者存在 T790M 突变^[32]。一种解释为吉非替尼和厄洛替尼结合 EGFR 的活性构象,而任何干扰药物与 EGFR ATP 口袋结合的突变都能够导致两者的耐药。

不吸烟肺癌患者中 T790M 的突变率仅为 0.54%。这种突变似乎与肺癌的遗传易感性增加相关,通常发生在 50 岁以后^[33]。患者往往还包含另一个 EGFR 激活突变,提示这个遗传改变(如 EGFR 的其他变化)会促进肿瘤的发生和发展。

T790M 突变导致耐药的可能原因有:(1)790 位点由一个庞大体积的蛋氨酸(M)替代苏氨酸(T),出现了位阻效应,减弱了与 EGFR 的 ATP 口袋中药物的结合力。(2)T790M 突变增加了 EGFR-L858R 突变体与 ATP 的亲合力,而且是至少一个数量级以上的差别,使得和 ATP 的亲合力恢复到野生型 EGFR 水平。相对野生型 EGFR,原先的 EGFR-L858R 单突变使得 ATP 亲合力减弱,导致容易被 TKI 结合和抑制,而双突变造成的 ATP 亲和力的恢复使得加大的治疗窗重新关闭,因而产生对 TKI 的获得性耐药^[34-35]。

生化研究表明,当 T790M 突变发生在 EGFR 药敏突变之后,该突变会增加激酶活性。尽管 T790M 突变会增强致癌性,此类获得性耐药的患者却显示出疾病进程减缓的态势^[36],随即停止 TKI 治疗后有疾病突然暴发的报道,这表明在耐药肿瘤细胞中仍有一定比例的细胞对 EGFR 抑制敏感。虽然厄洛替尼与吉非替尼抗 EGFR T790M 突变肿瘤活性有限,短期中断靶向治疗后仍有对它们多次重新应答的报道^[37]。这种现象产生的原因还很难阐明。

最近的一项研究显示,在未治疗的 EGFR 突变的肺癌中带有 T790M 突变耐药克隆出现频率非常低。曾经使用高度敏感的突变检测技术,对转移性 NSCLC 患者的肿瘤样本进行研究,T790M 突变等位基因发生率为 1/500^[38]。因此,还需要深入揭示这种突变是否已经存在于早期肿瘤中。

近年来,还发现了 3 个与获得性耐药有关的 EGFR 第二位点突变,包括 L747S(外显子 19)^[39], D761Y(外显子 19)和 T854A(外显子 21 激活环)^[40](图 2)。与 T790 相似,T854 是与药物接触的氨基酸,突变成更小的疏水性丙氨酸可能会增加特异性口袋的尺寸,抵消了与厄洛替尼的结合力。L747 位于 $\beta 3$ 链和 α -C 螺旋结构之间环(loop)区起始段,被认为是调控受体的活性构象达到平衡的重要氨基酸。D761 位于 α -C 的螺旋段,其突变成酪氨酸可能干扰盐桥的形成,且影响受体的催化区。与临床资料相符,体外细胞水平用厄洛替尼进行综合耐药性突变筛选试验中,同样确认了 D761Y、T790M 和 T854A 突变产生耐药的作用。T790M 突变在所有耐药突变中所起作用最突出。

4.2 MET 的扩增

癌基因 *MET* 的扩增是导致高达 20% EGFR 突变的 NSCLC 治疗中 TKI 失败的原因,且与 T790M 突变无关^[41-42]。在 EGFR-TKI 存在下,*MET* 扩增激活 ERBB3-PI3K 的信号途径,导致 NSCLC 对 TKI 产生耐药(图 3)。除了原发性耐药的作用以外,*MET* 的配体 HGF 也能导致 TKI 的部分获得性耐药。总的来说,研究表明,*MET* 可能是 TKI 获得性耐药后的治疗靶点。

4.3 其他机制

还有约 40% 获得性耐药患者不具备第二位点突变或 *MET* 的扩增。因此,多种确定耐药机制的研究还在进行中。可能的机制如下:(1)体外研究显示上皮细胞向间充质细胞的转化(EMT)一直与 EGFR-TKI 的耐药有关联。最近临床试验证实了 EMT 的存在,EMT 信号网络转化减少了耐药患者对 EGFR 信号途径的依赖^[43];(2)IGF1R 信号的增强可能也与获得性耐药相关^[44],同前面原发性耐药所述;(3)有报道 mTOR 与 EGFR 耐药有关,阻断 mTOR 通路可干扰肿瘤生长。可能与 EGFR-TKI 对核糖体 p70S6 激酶活化没有作用有关^[45];(4)ATP 结合盒式转运蛋白(ATP binding cassette, ABC)的药泵激活可将药物外排到细胞膜外。如 ABCG2 蛋白的突变可将吉非替尼泵出细胞外,降低肿瘤细胞内的有效药物浓度,从而产生耐药^[46]。此外,还有血管调控的改变和环氧合酶 2 的过度表达等。近来有临床报道,一些初诊为 EGFR 突变、获得性耐药的肺癌患者,复发时表现出小细胞肺癌的特征,患者没有检测出 T790M 突变或 *MET* 扩增,且带有 EGFR 的药敏

突变,具体原因不明^[47]。因此,EGFR-TKI 获得性耐药的研究仍然是当前该领域探索的热点。

5 克服 EGFR-TKI 耐药的策略

5.1 原发性耐药

针对不同类型的原发性耐药采取不同的策略(图 3,图 4)。由于最初开发的第 1 代 EGFR-TKI 是针对野生型 EGFR,而在临床应用后才发现了 EGFR 突变,因此对于 EGFR 突变患者,需要继续摸索早期的最佳用药方案。一个很有前景的策略是和 BCL-2 抑制剂联合用药,增加 BIM 的表达,增强 TKI 的诱导细胞凋亡作用,从而在临床上提高患者的反应率和延迟肿瘤恶化时间。对于耐药型 EGFR 突变,如外显子 20 插入和重叠,其他 EGFR-TKI 可能会更有效。如第 2 代 EGFR-TKI 的化合物 PF-00299804(辉瑞公司,已进入期临床试验)已被证明,对至少一个带有 EGFR 外显子 20 插入突变的患者产生了部分疗效^[47]。对于与 EGFR 突变共存的其他基因组的改变,也可采取联合用药方式(图 3,图 4)。例如,IGF1R 特异性抗体或 PI3K、ATK 的抑制剂与 TKI 联合治疗,可以有效对抗耐药的产生。对于 EGFR 野

生型肿瘤,针对肿瘤中检测出的其他致瘤性突变(如 ALK、KRAS 和 BRAF),同样采取相应方法来联合治疗。

5.2 获得性耐药

获得性耐药仍然是治疗 EGFR 突变肺癌的主要临床问题,通常发生在开始治疗的第 1 年。根据其发生的分子机制,多项研究及相关临床试验已经启动。

5.2.1 第 2 代 EGFR-TKI 与吉非替尼和厄洛替尼相比,第 2 代 EGFR-TKI 在临床前研究中均表现出克服第二位点 T790M 突变介导的耐药,临床疗效仍有待观察。

第 2 代 EGFR-TKI 是通过共价键与 EGFR C797 残基不可逆结合,也称为不可逆的 EGFR-TKI。第 1 个受试药物奈替替尼(neratinib)的临床前结果非常令人乐观^[48],但 14 例带有 EGFR 阳性(IHC 测定)的 NSCLC 和 6 例曾使用厄洛替尼治疗的期临床试验进展未见报道。期临床试验只显示 3%总反应率,对 T790M 突变患者未观察到期待的疗效^[49]。4 名含有 G719X 突变的用药患者中仅 3 名产生部分疗效,因此该药已停止用于治疗肺癌的研发。其他多个第 2 代 EGFR-TKI

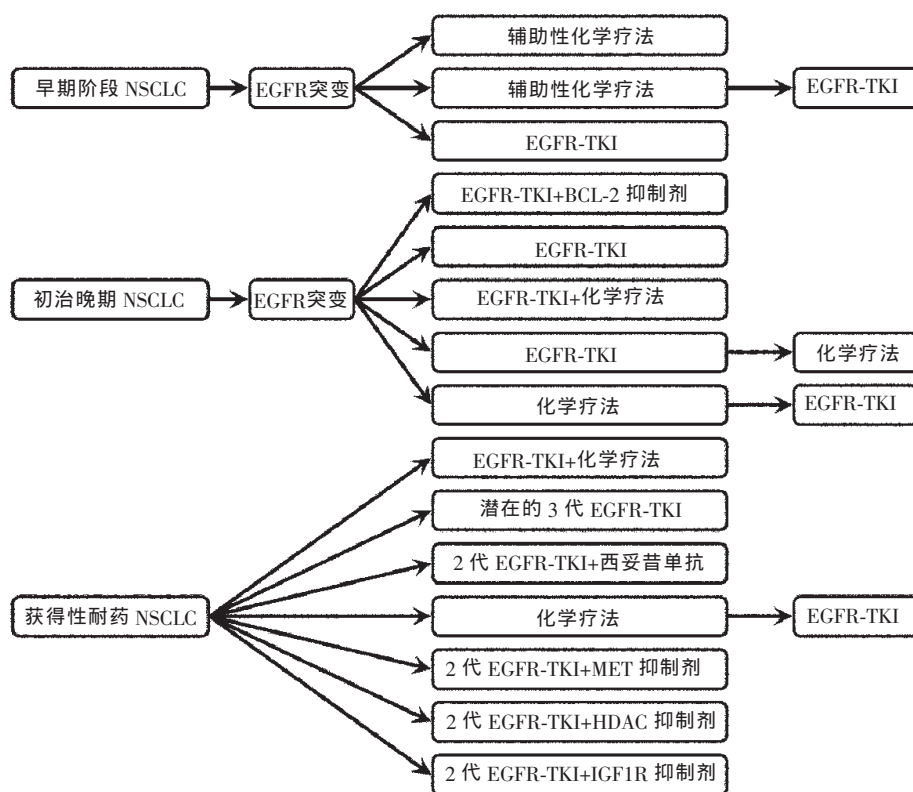


图 4 针对 EGFR 突变的 NSCLC 潜在的治疗新策略^[23]

也已进入临床试验阶段。阿法替尼(afatinib)可较强作用于 EGFR 和 ERBB2, 在体内外能够克服 T790M 突变介导的耐药性^[40]。该药用于 EGFR 突变、TKI 初治或曾经使用 TKI 治疗有进展的 NSCLC 患者的多个 I 期和 II 期临床试验正在进行中。PF-00299804 同样可以不可逆地结合所有 ERBB 家族成员, 对 L858R 和 T790M 突变的 H1975 细胞和体内移植瘤模型均显示出了很好的功效。其早期临床试验也在进行中。

5.2.2 第 3 代 EGFR-TKI 最近报道, 一种新的化合物 WZ4002 (Gatekeeper 公司) 是筛选出的能与 T790M 突变的 EGFR ATP 口袋很好匹配结合的化学骨架^[50]。与目前为止所有可逆和不可逆抑制剂所通用的喹唑啉核心骨架不同, WZ4002 是由苯胺嘧啶核心骨架构成, 能与 C797 不可逆结合且作用于苏氨酸(T790)的关键突变位点。与现有第 2 代 EGFR-TKI 相比, 这类药物能选择性地靶向受体 T790M 突变, 并且在体内外对 EGFR 双突变肿瘤的抑制作用强于带有药敏突变或野生型 EGFR 肿瘤。研究提示, 该化合物抑制 T790M 突变体的有效剂量不会影响野生型 EGFR 和产生毒性。

5.3 组合用药

基于 EGFR 突变 NSCLC 的原发性和获得性耐药的作用机制, 在临床前试验模型上已经开始尝试一些合理的用药组合(图 3, 图 4)。为了同时靶向作用 EGFR 及其下游 AKT 的信号, 不可逆 EGFR-TKI 已经和 mTOR 抑制剂联合用药, 联合使用阿法替尼和西罗莫司(雷帕霉素)治疗比两药单独用药更有效地将 T790M 突变的肺癌转基因小鼠的肿瘤缩小^[51]。这种策略对于临床的耐药患者是否有效仍有待确定。使用阿法替尼与西妥昔单抗对 EGFR 双重抑制似乎也是一个很有前途的策略, 因为这种组合可有效靶向 EGFR 的 T790M 突变(图 3)^[15], 临床试验目前也在进行中。

由于 MET 信号能促进 TKI 耐药性的产生, 多个 MET 抑制剂用于这些耐药肿瘤的杀伤实验正在研究中(图 3)。针对 HGF 的抗体(AMG102), MET 抗体(MetMab)和 MET 小分子抑制剂^[52]目前也在研发阶段(图 3, 图 4)。目前研究显示, 第 2 代 EGFR-TKI 对 MET 扩增肿瘤没有作用, 吉非替尼或厄洛替尼加上 MET 抑制剂的组合没有表现出对 T790M 突变肿瘤的抑制活性, 还有待进一步研究。此外, 机体对不同肿瘤的异质性耐药也影

响了疗效。

5.4 防止与延缓耐药

另一种长远解决 TKI 耐药问题的策略是防止或延缓获得性耐药的产生。至今未被关注的是研究现有药物不同剂量的影响, 找出 EGFR 突变肿瘤的最佳剂量方案。数学模型提示, 不同的给药方案可能影响获得性耐药的产生时间^[53]。另外, 早期运用前述的组合策略治疗效果好于晚期的组合用药。

6 结语

转化医学研究表明, EGFR 突变的 NSCLC 中存在新的临床相关亚群。虽然 EGFR 突变的肿瘤患者增加了对靶向药物 TKI 的敏感性, 但其原发和获得耐药仍然是一个主要的临床问题。针对不同耐药机制, 可采用第 2 代不可逆或者第 3 代 TKI, 以及其他致瘤性突变和 EGFR 下游信号通路相应的抑制剂的组合用药策略。同时, EGFR-TKI 耐药的实例也表明了针对单个基因或蛋白靶向治疗策略的局限性。由于大多数疾病的致病因子都具有多向性, 客观存在一个复杂的网络系统, 阻断其中一个点往往不能得到很好的疗效。未来的研究趋势是与生物信息学专业合作, 将现有药物及其靶标的相关信息构建成药物-EGFR 网络, 对网络进行拓扑表征分析, 表征出不同节点在网络中的重要程度, 然后基于生物网络的模拟分析, 来合理设计组合用药, 达到减少给药剂量和不良反应, 克服耐药并提高疗效的目的。相信通过科研人员和临床医师的共同努力, 以及基于药物-靶标生物网络系统的指导和分析, 能针对 EGFR 突变肺癌患者制定出有效的策略, 从而改善 NSCLC 的临床治疗效果。

【参考文献】

- [1] Jemal A, Siegel R, Xu JQ, et al. Cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60(5): 1-24.
- [2] Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(5): 341-354.
- [3] Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(21): 2129-2139.
- [4] Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy [J]. *Science*, 2004, 304(5676): 1497-1500.

- [5] Pao W, Miller V, Zakowski M, *et al.* EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(36):13306-13311.
- [6] Nguyen KS, Kobayashi S, Costa DB. Acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancers dependent on the epidermal growth factor receptor pathway [J]. *Clin Lung Cancer*, 2009, 10(4):281-289.
- [7] Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, *et al.* Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(10):947-957.
- [8] Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, *et al.* Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 11(2):121-128.
- [9] Rosell R, Moran T, Queralt C, *et al.* Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(10):958-967.
- [10] Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, *et al.* Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(25):2380-2388.
- [11] Yeo WL, Riely GJ, Yeap BY, *et al.* Erlotinib at a dose of 25 mg daily for non-small-cell lung cancers with EGFR mutations [J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(7):1048-1053.
- [12] Rosell R, Viteri S, Molina MA, *et al.* Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as first-line treatment in advanced non-small-cell lung cancer [J]. *Curr Opin Oncol*, 2010, 22(2):112-120.
- [13] Pirker R, Minar W. Chemotherapy of advanced non-small cell lung cancer [J]. *Front Radiat Ther Oncol*, 2010, 42:157-163.
- [14] Lynch TJ, Patel T, Dreisbach L, *et al.* Cetuximab and first-line taxane/carboplatin chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: results of the randomized multicenter phase trial BMS099 [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(6):911-917.
- [15] Regales L, Gong Y, Shen R, *et al.* Dual targeting of EGFR can overcome a major drug resistance mutation in mouse models of EGFR mutant lung cancer [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(10):3000-3010.
- [16] Weir BA, Woo MS, Getz G, *et al.* Characterizing the cancer genome in lung adenocarcinoma [J]. *Nature*, 2007, 450(7171):893-898.
- [17] Ding L, Getz G, Wheeler DA, *et al.* Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma [J]. *Nature*, 2008, 455(7216):1069-1075.
- [18] Chitale D, Gong Y, Taylor BS, *et al.* An integrated genomic analysis of lung cancer reveals loss of DUSP4 in EGFR-mutant tumors [J]. *Oncogene*, 2009, 28(31):2773-2783.
- [19] Yun CH, Boggon TJ, Li Y, *et al.* Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity [J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(3):217-227.
- [20] Weinstein IB. Cancer addiction to oncogenes-the Achilles heel of cancer [J]. *Science*, 2002, 297(5578):63-64.
- [21] Deng J, Shimamura T, Perera S, *et al.* Proapoptotic BH3-only BCL-2 family prote in BIM connects death signaling from epidermal growth factor receptor inhibition to the mitochondrion [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(24):11867-11875.
- [22] Faber AC, Wong KK, Engelman JA. Differences underlying EGFR and HER2 oncogene addiction [J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(5):851-852.
- [23] Pao W, Chmielecki J. Rational, biologically based treatment of EGFR-mutant non-small-cell lung cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(11):760-774.
- [24] Tam IY, Leung EL, Tin VP, *et al.* Double EGFR mutants containing rare EGFR mutant types show reduced *in vitro* response to gefitinib compared with common activating missense mutations [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(8):2142-2151.
- [25] Sos ML, Koker M, Weir BA, *et al.* PTEN loss contributes to erlotinib resistance in EGFR-mutant lung cancer by activation of Akt and EGFR [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(8):3256-3261.
- [26] Sharma SV, Lee DY, Li B, *et al.* A chromatin-mediated reversible drug-tolerant state in cancer cell subpopulations [J]. *Cell*, 2010, 141(1):69-80.
- [27] Linardou H, Dahabreh IJ, Kanakloupiti D, *et al.* Assessment of somatic k-RAS mutations as a mechanism associated with resistance to EGFR-targeted agents: a systematic review and meta-analysis of studies in advanced non-small-cell lung cancer and metastatic colorectal cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2008, 9(10):962-972.
- [28] Poulikakos PI, Zhang C, Bollag G, *et al.* RAF inhibitors transactivate RAF dimmers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF [J]. *Nature*, 2010, 464(7287):427-430.
- [29] Haura EB, Ricart AD, Larson TG, *et al.* A phase study of PD-0325901, an oral MEK inhibitor, in previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(8):2450-2457.
- [30] Soda M, Choi YL, Enomoto M, *et al.* Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer [J]. *Nature*, 2007, 448(7153):561-566.
- [31] 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.
- [32] Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, *et al.* EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(8):786-792.
- [33] Girard N, Lou E, Azzoli CG, *et al.* Analysis of genetic variants in never-smokers with lung cancer facilitated by an Internet-based blood collection protocol: a preliminary report [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(2):755-763.
- [34] 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.
- [35] Sos ML, Rode HB, Heynck S, *et al.* Chemogenomic profiling provides insights into the limited activity of irreversible EGFR inhibitors in tumor cells expressing the T790M EGFR resistance mutation[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(3):868-874.
- [36] Mok TS. Living with imperfection [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(2):191-192.
- [37] Riely GJ, Kris MG, Zhao B, *et al.* Prospective assessment of discontinuation and reinitiation of erlotinib or gefitinib in patients with acquired resistance to erlotinib or gefitinib followed by the addition of everolimus [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(17):5150-5155.
- [38] Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, *et al.* Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells[J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(4):366-377.
- [39] 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):1182-1186.
- [40] Bean J, Riely GJ, Balak M, *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.
- [41] 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 USA*, 2007, 104(52):20932-20937.
- [42] 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.
- [43] Uramoto H, Iwata T, Onitsuka T, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition in EGFR-TKI acquired resistant lung adenocarcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(7):2513-2517.
- [44] 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.
- [45] Bianco R, Garofalo S, Rosa R, *et al.* Inhibition of mTOR pathway by everolimus cooperates with EGFR inhibitors in human tumors sensitive and resistant to anti-EGFR drugs[J]. *Br J Cancer*, 2008, 98(5):923-930.
- [46] Hopper-Borge EA, Nasto RE, Ratushny V, *et al.* Mechanisms of tumor resistance to EGFR-targeted therapies [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2009, 13(3):339-362.
- [47] Janne PA. Preliminary activity and safety results from a phase clinical trial of PF-00299804, an irreversible pan-HER inhibitor, in patients (pts) with NSCLC [C]. *J Clin Oncol Abstr*, 2010, 8027.
- [48] Sharma SV, Bell DW, Settleman J, *et al.* Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer[J]. *Nature Rev Cancer*, 2007, 7(3):169-181.
- [49] Sequist LV, Besse B, Lynch TJ, *et al.* Neratinib, an irreversible pan-ErbB receptor tyrosine kinase inhibitor: results of a phase trial in patients with advanced non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(18):3076-3083.
- [50] Zhou W, Ercan D, Chen L, *et al.* Novel mutant-selective EGFR kinase inhibitors against EGFR T790M [J]. *Nature*, 2009, 462(7276):1070-1074.
- [51] 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.
- [52] Comoglio PM, Giordano S, Trusolino L. Drug development of MET inhibitors: targeting oncogene addiction and expedience [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(6):504-516.
- [53] Foo J, Michor F. Evolution of resistance to targeted anti-cancer therapies during continuous and pulsed administration strategies[J]. *PLoS Comput Biol*, 2009, 5(11):e1000557.

(收稿日期:2010-12-06 修回日期:2011-02-14)

关注药物安全性

用不良反应数据库早期检出药物安全问题

欧盟不良反应数据库(Eudra Vigilance database)收集的不良反应药物反应资料的评价研究显示它可以早期检出药物的安全性问题。此数据库对所有欧盟授权批准药物一旦怀疑有药物相关性严重不良反应可提供自发报告。欧洲医药局进行了一项研究,用此数据库提供的信号检出方法,强调建立药物警戒系统,如积极的监视临床试验或定期更新安全性报告,结论是常规药物警戒和统计信号检出,可提供优化的安全性监视,较早检出和较好处理安全性问题,因而使公众健康的保护得到改善。

(黄世杰摘)