

[文章编号] 1007-385X(2004)01-0075-03

表皮生长因子受体抑制剂在肿瘤治疗方面的研究进展

吕峰 综述; 胡云章, 姜述德 审阅(中国医学科学院中国协和医科大学 医学生物学研究所, 昆明 650118)

[摘要] 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在多种肿瘤细胞中过度表达和/或突变, 对肿瘤的发生和发展具有重要影响, 因而成为肿瘤治疗的靶向位点之一。目前, 靶向 EGFR 的单克隆抗体(monoclonal antibody, MAb) IMC-225 和酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI) ZD1839 和 OSI-774 已进入临床试验阶段, 对多种类型的肿瘤显示出了较好的临床疗效。

[关键词] 表皮生长因子受体; 抑制剂; 肿瘤治疗

[中图分类号] R730.5; R979.5 [文献标识码] A

EGFR 是一种受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK), 能够介导多条信号转导通路, 将胞外信号传递至胞内, 以对核内基因的表达和细胞的生长分化产生调节作用。1982 年, Cohen 等^[1]首次发现的 RTK 即为 EGFR, EGFR 是 4 个相关受体亚家族的一部分, 该家族成员包括: EGFR(ErbB-1/HER-1), HER-2/neu(ErbB-2), HER-3(ErbB-3), HER-4(ErbB-4)。这些受体以无活性的单体形式存在, 与配体结合后发生二聚化, 并激活了受体中 Tyr 激酶的活性, 从而引发胞内信号传递过程。研究发现 EGFR 在乳腺癌、胃癌、膀胱癌等多种肿瘤细胞中过度表达和/或突变, 因而选择性抑制 EGFR 介导的信号转导途径以达到肿瘤治疗的目的已成为近年来研究的热点。

1 EGFR 的结构及其介导的信号转导通路

EGFR 是由 1 186 个氨基酸残基组成的 N 端糖基化的单链跨膜糖蛋白, 无亚单位结构, 分子量为 170 kD, 包括: N 端的胞外区, 由 621 个氨基酸残基组成, 含配体结合位点; 跨膜区, 由 23 个氨基酸残基组成; C 端的胞内区, 由 542 个氨基酸残基构成, 含有一个 Tyr 激酶结构域。

EGFR 与配体结合后发生二聚化, 导致其胞质区中的酪氨酸残基自我磷酸化, 从而激活了受体中 Tyr 激酶的活性, 并暴露了 Tyr 激酶作用靶蛋白的结合位点。EGFR 介导的信号转导通路主要有: ①通过接头蛋白(如 GRB2)、鸟苷酸交换因子(GEF)、Ras 蛋白及一系列 Ser/Thr 激酶磷酸化级联反应, 将胞外信号传至核内, 以对核内基因的表达和细胞的生长分化产生调节作用。②激活磷脂酶 C- γ (PLC- γ 1), 随后磷脂酰肌醇二磷酸(PIP₂)被活化的 PLC- γ 1 水解为肌醇三磷酸(IP₃)和磷脂酰甘油(DAG), IP₃ 引起内质网膜中 Ca²⁺ 通道开放, 使胞内 Ca²⁺ 浓度增高; DAG 则进一步激活蛋白激酶 C(PKC)。PKC 是一种重要的 Ser/Thr 激酶, 与 Ca²⁺ 结合后被激活, 能够增加特异的基因转录, 对于控制细胞的分裂和增殖具有重要意义。

EGFR 介导的信号传递途径非常广泛而重要, 涉及细胞

的生长、分化、增殖和细胞代谢的调节等多个方面, 一旦某一环节出现异常往往导致肿瘤等恶性疾病的发生。

2 EGFR 与肿瘤

EGFR 介导的信号转导途径对正常细胞和肿瘤细胞的增殖、分化和凋亡均发挥重要的调节作用。肿瘤细胞中 EGF-EGFR 介导的胞内信号转导途径的异常激活可能由以下几种机制引起: EGFR 的过分表达, 配体浓度的增加, 磷酸酶活性的降低, 受体代谢减缓或异常受体的出现等。研究证实多种肿瘤细胞中均可检测到 EGFR 的过度表达, 包括乳腺癌、胃癌、膀胱癌、前列腺癌、卵巢癌、结肠直肠癌等^[2]。同时研究发现人类癌症中 EGFR 基因最常突变为 EGFRv III, EGFRv III 是 EGFR 配体结合区缺失的突变体, 该缺失多由基因重排引起。重排的 EGFRv III 基因表达增强, 导致肿瘤细胞中 EGFRv III 异常增加, 并且 EGFRv III 在不能与配体结合的情况下, 组成性激活酪氨酸激酶, 诱发下游的信号转导途径, 引起细胞异常增殖并抑制凋亡^[3]。

总之, EGFR 介导的信号转导途径不仅对正常细胞的增殖、分化起到关键作用, 而且对癌症的发生和发展过程均产生重要的影响^[2]。

3 EGFR 抑制剂

大量实验研究和临床工作均证实 EGFR 可以成为癌症治疗的作用靶位点。MAbs 和小分子 TKIs 已成为目前以 EGFR 为靶位点的癌症治疗的临床研究中最有希望的两种治疗途径。通常情况下, MAbs 靶向 EGFR 的胞外结构域, 从而封闭配体的结合位点; TKIs 则防止 EGFR 胞内酪氨酸激酶结构域的自身磷酸化, 两者均可阻断 EGFR 介导的信号转导途径, 进而抑制细胞的增殖与分化。靶向 EGFR 的癌症治疗方法还包括将 TGF α 和 EGF 融合到毒素的重组蛋白(如假单胞杆菌属铜绿菌毒素)的使用, 偶联到金雀异黄酮的 EGF 及靶向 EGFR 的疫苗、靶向 EGFR mRNA 的反义寡核苷酸等^[2]。

3.1 靶向 EGFR 的 MAbs

3.1.1 IMC-C225

J. Mendelsohn 于 20 世纪的 80 年代首次提出将靶向 EGFR 的 MAbs 应用于癌症治疗。目前, Mendelsohn 的研究小组已经研制出 MAb528 和 MAb225 两种抗 EGFR 的 MAbs, 均可在体内外抑制人类癌细胞株的生长。然而研究同时发现在人体使用鼠源性 MAbs, 人抗鼠 Ab 的产生会干扰治疗效果。为避免这种情况的发生, 人-鼠嵌合型 MAb225(IMC-C225) 已经研制出来, 目前已进入临床试验阶段。人-鼠嵌合型单抗是指通过基因工程技术将人免疫球蛋白恒定区基因与鼠免疫球蛋白可变区基因重组, 由表达载体携带至宿主细胞内产生抗体。IMC-C225 与 MAb225 相比, 免疫原性大大降低, 但对抗原的亲合力和特异性却明显提高^[4,5]。

人源性恶性肿瘤的裸鼠模型实验表明 IMC-C225 能够显著抑制上皮、前列腺、结肠、肾等器官移植肿瘤的生长, 同时常常伴有裸鼠模型存活率的明显提高^[6]。此外, IMC-C225 能够通过抑制瘤内血管生成而发挥抗肿瘤作用, 这很可能是由肿瘤内多种血管生成因子表达降低造成的, 其中包括 TGF α , VEGF, IL-8, bFGF 等^[6]。

当 IMC-C225 和各种细胞毒性药物(如阿霉素、顺铂等) 瘤内联合给药, 可以观察到 IMC-C225 剂量依赖性的肿瘤生长抑制作用的增强。而 IMC-C225 与 paclitaxel, gemcitabine, topotecan 联合应用可以引起裸鼠体内胰腺、结肠、膀胱移植肿瘤的退化。同时体内外研究还发现 IMC-C225 可以增强放射性治疗对人上皮样癌、头颈部癌、结肠癌等异种移植肿瘤的疗效^[6-7]。

临床 I 期试验中, 参与实验的患者均经免疫组化检测证实肿瘤细胞表面有 EGFR 的过度表达。试验中分别采用 IMC-C225 单独给药和与顺铂联合给药 2 种方案, 结果表明 IMC-C225 在一定剂量范围内对肿瘤的抑制作用达到完全饱和, 并且不会因反复用药或与顺铂联合用药而发生改变。常见副作用为皮肤反应, 发热、寒战, 无力, 一过性转氨酶升高, 恶心、呕吐等^[8]。

在临床 II 期试验中 IMC-C225 单独给药可使部分患者病情稳定; 与顺铂联合用药则使部分患者病情得到完全缓解。对放、化疗和手术治疗无效或治疗后复发的患者(均有 EGFR 的过度表达) 进行 IMC-C225 与顺铂联合用药, 也显示出良好的抗癌效果^[9]。

3.1.2 其它靶向 EGFR 的 MAb

ABX-EGF 是一种特异靶向 EGFR 的人源性 IgG2, 在体外实验中能够有效抑制血管生成因子的产生而发挥抗肿瘤活性, 在体内实验中也明显抑制 EGFR 过度表达的肿瘤的生长, 目前 ABX-EGF 已进入临床 I 期试验^[9]。Y10 是靶向人和鼠肿瘤细胞中突变的 EGFRv III 的 MAb, 能够在体外抑制细胞的增殖, 并诱导细胞毒作用, 对人脑部肿瘤的裸鼠模型进行瘤内注射 Y10 可使裸鼠模型的平均存活时间延长约 3 倍^[10]。

3.2 小分子 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂

在过去的十年中, 许多 TKIs 被研制成功, 并对其临床疗

效进行了评估。目前最有希望的小分子选择性 EGFR-TKIs 有三类: 4-苯氨基喹啉, 4-(烷基胺) 吡哆啉, 4-苯基氨基吡咯-嘧啶。这些小分子抑制剂已经在动物模型的体内实验中显示出良好的抗肿瘤效果, 其中 ZD1839, OSI-774 和 CI-1033 已进入临床试验阶段。

3.2.1 ZD1839

ZD1839 是一种合成的低分子量苯基氨基喹啉化合物, 能够选择性且可逆性抑制 EGFR 酪氨酸激酶的活性, 而对其它的酪氨酸激酶和 Ser/Thr 激酶的抑制作用较弱。ZD1839 可抑制多种表达 EGFR 的人类癌细胞株的生长, 包括: 前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、上皮样癌、肺小细胞癌和非小细胞肺癌(Non-Small cell lung cancer, NSCLC) 等^[11]。

研究表明 ZD1839 能通过提高 p27^{Kip1} 细胞周期素依赖性激酶抑制剂的表达使人头颈部鳞癌细胞株的生长停滞于 G₁ 期, 从而显示出剂量依赖性的促凋亡作用。另外, 对裸鼠 A431 的异种移植肿瘤模型进行 ZD1839 给药, 可观察到 c-fos mRNA 水平的降低与给药的时间和剂量相关, 而 c-fos mRNA 被认为是 EGFR 激活促有丝分裂信号途径的核内生物标记, 故可进一步证实 ZD1839 能够阻断 EGFR 介导的信号转导途径。

最近又有研究表明 ZD1839 能够阻碍肿瘤组织中血管生成。事实上, 在多种人类癌细胞株中 ZD1839 对肿瘤生长的抑制作用是与 VEGF, bFGF, TGF 表达降低相关的, 并且在与 paclitaxel 联合应用时这一效应有所增强。在 EGFR 数量正常, 而 c-erbB-2 过分表达的人乳腺癌细胞实验中还发现 ZD1839 能够防止 EGFR/ c-erbB-2 异源二聚化, 从而阻断 c-erbB-2 诱导的异常信号传递途径。

此外, 在多种人类癌症的裸鼠模型中, ZD1839 可引起肿瘤生长减缓, 包括: 激素耐受性前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、阴道癌、肺小细胞癌和 NSCLC。而在人 GEO 结肠癌裸鼠模型进行连续给药, 则出现药物依赖性的肿瘤抑制作用, 一旦停药肿瘤的生长速度又会恢复到给药前。ZD1839 与顺铂、碳铂等联合应用可提高其抗癌效果, 甚至引起肿瘤消退^[14]。另外, ZD1839 与放疗联合应用具有协同效应, 可达到增强放疗效果的目的。

临床 I 期试验结果表明 ZD1839 对结肠直肠癌、卵巢癌、NSCLC、头颈部癌、肾癌和激素抗性前列腺癌患者均有良好的抗癌疗效, 尤其对 NSCLC 患者效果更佳。ZD1839 常见的不良反应为腹泻和皮肤反应, 更严重的不良反应很少出现, 且多与疾病的进展相关^[12]。

ZD1839 与 5-氟尿嘧啶、甲酰四氢叶酸等联合用药目前也有报导, 结果并没有发现 ZD1839 明显增加这些化疗药物的不良反应。而将 ZD1839 与细胞毒性药物(carboplatin/paclitaxel 或 cisplatin/gemcitabine) 联合应用于非手术治疗的 III 和 IV 期 NSCLC 患者的临床 III 期试验现已开展。

3.2.2 OSI-774

OSI-774 是一种喹啉类 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂, 通过选择性阻断 EGFR 介导的信号转导通路从而抑制肿瘤细

胞的增殖与分化,并诱导凋亡。此外,OSI-774 也可以通过明显提高 p27^{Kip1} 的表达而使癌细胞停滞于 G₁ 期。

OSI-774 在临床 I, II 期的试验中,对于卵巢癌、头颈部鳞癌、NSCLC 等均取得了较单一的化疗药物更为明显的疗效。并且在与顺铂等化疗药物联合应用的试验中,OSI-774 进一步增强了其抗癌效果,而尚未发现毒副作用的增加^[13]。但与 ZD1839 相似,在 OSI-774 连续给药过程中,患者多会出现腹泻、皮肤反应^[14]。目前,OSI-774 已进入临床 III 期试验阶段,被单独或与化疗同时应用于 NSCLC 及胰腺癌等肿瘤的治疗过程中,从而进一步验证和优化其在肿瘤治疗方面的应用^[15]。

3.2.3 其它 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂

PD183805 也是一种噻唑啉衍生物,能够可逆性抑制 EGFR 及其它 EGFR 家族成员的酪氨酸激酶活性。PD183805 在 A431 和 H125 肿瘤细胞株中的抗癌活性已被证实。PD183805 用于头颈部癌、乳腺癌、NSCLC 的试验目前已进入临床 I 期。CI-1033 是 PD183805 的水溶性类似物,在体外实验及人 A431 上皮样癌的裸鼠模型中 CI-1033 均可发挥其 EGFR 酪氨酸激酶活性抑制剂的作用。临床 I 期试验中,口服 CI-1033 的副作用主要为:皮肤反应和腹泻,剂量过大也可出现超敏反应和血小板减少^[16]。

PKI-166 是一种吡咯嘧啶,也能够体外可逆性抑制 EGFR 酪氨酸激酶的活性,从而阻碍 c-fos mRNA 的表达及细胞的增殖。PKI-166 已被证实四种裸鼠异种移植肿瘤模型中具有抗癌作用,但目前尚未进入临床 I 期试验^[17]。

GW-2016 是 6-噻唑啉衍生物,选择性抑制 EGFR 和 ErbB-2 酪氨酸激酶的活性。最近已有证据表明 GW-2016 在人 HNS 鳞癌细胞株中具有抗癌作用^[18]。但目前 GW-2016 也未进入临床 I 期试验。

4 结论及展望

到目前为止,已有足够的实验结果表明,选择性抑制 EGFR 的抗癌药物的研究与开发已经成为癌症治疗的成功领域之一。本文所介绍的 EGFR 抑制剂无论是在体外的癌细胞株中,还是在人类肿瘤异种移植的动物模型体内,均显示了显著的抗癌效果。

IMC-C225, ZD1839 和 OSI-774 不但在临床前期实验中表现出良好的抗癌效果,并且在初步的临床试验中也取得了令人瞩目的成绩。同时试验结果还表明这些 EGFR 抑制剂与细胞毒性药物和/或放射治疗联合应用可增强其抗癌疗效。由此可见,EGFR 抑制剂与细胞毒性药物或放疗联合应用是有效治疗肿瘤的新策略,与单纯通过增加化疗药物的剂量来提高抗癌效果相比,不但没有增加毒性作用,而且具有更高的耐受剂量,为肿瘤治疗提供了广阔的发展前景。

[参考文献]

[1] Wells A. Molecules in focus EGFR receptor[J]. Int J Biochem Cell Biol, 1999, 31: 637-643.
[2] Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibi-

tion in cancer therapy[J]. Pharmacol Ther, 1999, 82: 241-250.
[3] Moscatello DK, Holgado-Madruga M, Emler DR, et al. Constitutive activation of phosphatidylinositol 3-kinase by a naturally occurring mutant epidermal growth factor receptor[J]. J Biol Chem, 1998, 273: 200-206
[4] Mendelsohn J. Blockade of receptors for growth factors: An anti-cancer therapy[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 747-753.
[5] Goldstein NI, Prewett M, Zuklys K, et al. Biological efficacy of a chimeric antibody to the epidermal growth factor receptor in a human tumor xenograft model[J]. Clin Cancer Res, 1995, 1: 1311-1318.
[6] Bruns CJ, Harbison M T, Davis DW, et al. Epidermal growth factor receptor blockade with C225 plus gemcitabine results in regression of human pancreatic carcinoma growing orthotopically in nude mice by antiangiogenic mechanisms[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 1936-1948.
[7] Huang SM, Harari P. Modulation of radiation response after epidermal growth factor receptor blockade in squamous cell carcinomas: Inhibition of damage repair, cell cycle kinetics, and tumor angiogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 2166-2174.
[8] Baselga J, Pfister D, Cooper M R, et al. Phase I studies of anti-epidermal growth factor receptor chimeric antibody C225 alone and in combination with cisplatin[J]. J Clin Oncol, 2000, 18: 904-914.
[9] Yang XD, Jia XC, Corvalan JRF, et al. Therapeutic potential of ABX-EGF, a fully human anti-EGF receptor monoclonal antibody for cancer treatment[J]. Proc Am Soc Clin Oncol, 2000, 19: 48.
[10] Sampson JH, Crotty LE, Lee S, et al. Unarmed, tumor-specific monoclonal antibody effectively treats brain tumors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97: 7503-7508.
[11] Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, et al. Antitumor effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa), an epidermal growth factor receptor-selective tyrosine kinase inhibitor[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 2053-2063.
[12] Ferry D, Hammond L, Ranson M, et al. Intermittent oral ZD1839 (Iressa), a novel epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI), shows evidence of good tolerability and activity: final results from a Phase I Study[J]. Proc Am Soc Clin Oncol, 2000, 19: 3.
[13] Moyer JD, Barbacci EG, Iwata KK, et al. Induction of apoptosis and cell cycle arrest by CP-358,774, an inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase[J]. Cancer Res, 1997, 57: 4838-4848.
[14] Finkler N, Gordon A, Crozier M, et al. Phase 2 evaluation of OSI-774, a potent oral antagonist of the EGFR-TK in patients with advanced ovarian carcinoma[J]. Proc Am Soc Clin Oncol, 2001, 21: 208.
[15] Roy SH. Erlotinib (Tarceva): An update on the clinical trial program[J]. Semin Oncol, 2003, 30(3 suppl 7): 34-46.
[16] Garrison MA, Tolcher A, McCreery H, et al. A phase I and pharmacokinetic study of CI-1033, a pan-erbB tyrosine kinase inhibitor, given orally on days 1, 8, and 15 every 28 days to patients with solid tumors[J]. Proc Am Soc Clin Oncol, 2001, 21: 72
[17] Bruns CJ, Solorzano CC, Harbison M T, et al. Blockade of the epidermal growth factor receptor signalling by a novel tyrosine kinase inhibitor leads to apoptosis of endothelial cells and therapy of human pancreatic carcinoma[J]. Cancer Res, 2000, 60: 2926-2935.
[18] Mullin RJ, Allgood KJ, Allen PP, et al. Anti-tumor activity of GW2016 in the EGFR positive HNS human head and neck cancer xenograft[J]. Proc Am Assoc Cancer Res, 2001, 42: 854.