

[文章编号] 1007-385X(2007)02-0105-05

· 专家论坛 ·

EGFR 突变与非小细胞肺癌酪氨酸激酶抑制剂靶向治疗

EGFR mutations and targeted therapy with tyrosine kinases inhibitors in non-small cell lung cancer

朱红^{1,2}, Tam Yee San Issan¹, Maria Wong¹(1. Faculty of Pathology, The University of Hong Kong, Hong Kong; 2. 青岛大学医学院病理学教研室, 青岛 266021)

[通讯作者简介] Maria Wong, 毕业于香港大学医学院, 并取得内外全科医学学士(MBBS)、香港大学医学院医学博士(MD)、英国皇家病理科学院院士(FRCPath)、澳洲皇家病理科学院院士(FRCPA)、香港病理学专科院士(FHKAM-Pathology)、FIAC、英国皇家内科医学院院士(MRCP)等资格。现为香港大学病理学系副教授、博士生导师, 从事解剖病理学, 尤其下呼吸系统疾病的诊断工作; 专注于肺病变、肺癌和肺癌分子生物学方面的教学和研究工作, 与香港的临床肿瘤学家及多个国际肿瘤生物学科学家有广泛的研究合作, 其研究成果曾于《Cancer Research》、《Clinical Cancer Research》等多种国际期刊发表。E-mail: mwpik@hkucc.hku.hk

[摘要] 肺癌的高发病率和高病死率, 以及化疗对晚期肺癌疗效的十分有限, 使之成为世界性医学难题。最近发现, 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinases inhibitors, TKIs)的分子靶向治疗可以使晚期非小细胞肺癌瘤体缩小; 然而, 以 Gefitinib 和 Erlotinib 为代表的 TKIs 治疗敏感性与 EGFR 基因突变显著相关。研究证实, EGFR 最常见发生的 19 区缺失突变和 21 区点突变导致相应氨基酸序列和 EGFR 结构的改变, 是其增加药物敏感性的主要机制。此外, EGFR 基因扩增和 CA 重复序列的多态性、EGFR 通路下游信号(如 p-AKT 等)激活、HER2 和(或)HER3 表达的增加、K-RAS 基因突变等因素皆影响其对 TKIs 的治疗敏感性。鉴于此, 进一步研究 EGFR 基因不同突变的功能, 寻找能预测 TKIs 治疗敏感性的因素, 并作为 TKIs 敏感患者的筛选指标, 对于提高晚期肺癌患者 TKIs 靶向治疗疗效具有重要意义。

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

[中图分类号] R730.59

[文献标志码] A



肺癌是当今世界上最常见的恶性肿瘤, 男性肺癌占各类恶性肿瘤发病率的首位, 女性肺癌发病率仅次于乳腺癌占第 2 位。肺癌与吸烟密切相关。近十年, 在美国和一些发达国家由于吸烟者的减少, 男性肺癌的发病率和病死率已经降低, 但女性肺癌发病人数则逐年上升。在东亚地区(包括日本、韩国、台湾、香港、新加坡), 大多数的女性肺癌患者是非吸烟者, 组织学上则以腺癌为主。许多研究显示, 被动吸烟、烹饪油烟暴露、煤烟暴露、饮食习惯、肺部疾病史及肺癌家族史等是其发病的危险因素, 但是目前对其发病机制的理解仍是很有限^[1-6]。

尽管手术和化疗技术不断提高, 但肺癌患者的预后仍然很差, 5 年生存率仍 < 20%^[7]。近年来随着分子生物学技术的提高, 产生了一些针对分子靶点的抗肿瘤药物。这些药物针对性强, 能特异性地杀伤肿瘤细胞。其中以表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)为靶点的分子靶向治疗(molecular targeted therapy)在非小细胞肺癌

(non-small cell lung cancer, NSCLC)的治疗中日渐突出。EGFR 属于受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs), 调控细胞的生长、分化、血管生成及凋亡抑制, 其信号通路与恶性肿瘤的生长、侵袭及转移关系密切^[8]。这类靶向药物称作酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinases inhibitors, TKIs), 其中吉非替尼(Gefitinib, 商品名为 Iressa)和埃罗替尼(Erlotinib, 商品名为 Tarceva)治疗可以使肿瘤缩小。然而在 Gefitinib 和 Erlotinib 的临床试验和治疗中, 仅有一部分 NSCLC 人群对药物有反应^[9]。而近期研究发现几乎所有对 TKIs 敏感的 NSCLC 患者都存在 EGFR 基因的体细胞突变。因此, 研究 NSCLC 患者不同治疗反应性的机制、以及从中筛选出最适治疗对象进行有针对性的治疗具有重要临床意义。

1 TKIs 对肺癌的治疗效果

小分子 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂主要包括 Gefitinib 和 Erlotinib, 较早期的 I、II 期临床试验显示, 此两种药物在对难治性 NSCLC 的治疗中有较好的疗效。患者的反应率达到 10% ~ 18%, 且中位生存期(median survivals)提高至 7.0 ~ 8.4 个月^[9]。近

年来,加拿大、英国及美国的学者进行了大量的单药物 Gefitinib 或 Erlotinib 对比安慰剂的随机化 III 期临床研究。在 BR. 21 研究中,研究入组 731 例已经一线或二线化疗后的进展期 III/IV 期 NSCLC 患者,488 例接受 Erlotinib 治疗,243 例接受安慰剂治疗。结果显示,患者对 Erlotinib 的反应率是 8.9%,而对于安慰剂的反应不足 1%。Erlotinib 治疗组在中位生存期(6.7 个月对 4.7 个月)和无进展生存时间(progression-free survival, PFS)(2.23 个月对 1.84 个月)均优于安慰剂组^[10]。在 Gefitinib 的肺癌 ISEL (IRESSA survival evaluation in lung cancer) 临床研究中,入组的 1 692 例 NSCLC 患者经 Gefitinib 治疗与安慰剂相比,中位生存期分别为 5.6 个月对 5.1 个月,虽然研究显示在肿瘤的缩小方面 Gefitinib 有优势,但并未能转化为有统计学意义的生存期延长^[11]。

在上述和其他的研究中发现,NSCLC 患者对 TKIs 的治疗反应差别很大,TKIs 对部分患者的治疗效果较好。这部分患者主要是非吸烟者、女性、亚洲人和腺癌(尤其是细支气管肺泡癌 bronchioloalveolar carcinoma, BAC)患者。在 ISEL 临床研究中,非吸烟和亚裔患者中 Gefitinib 治疗组的生存期明显长于安慰剂组,中位生存期分别是 8.9 个月对 6.3 个月、9.5 个月对 5.5 个月。

2 EGFR 基因突变与 TKIs 治疗敏感性

2004 年 6 月,Lynch 等^[12]和 Paez 等^[13]率先报道,肺癌细胞中 EGFR 酪氨酸激酶编码区基因突变是靶向药物奏效的一个必要前提条件,研究结果显示,对 EGFR 突变型 NSCLC, Gefitinib 的有效率高达 80% 以上,而对野生型肿瘤则基本无效。这一研究成果发表后相继被其他研究所证实^[14-15]。

2.1 EGFR 酪氨酸激酶及其信号传导

EGFR 与 HER2/ErbB2、HER3/ErbB3、HER4/ErbB4 等被归入 ErbB 家族,同属于受体酪氨酸激酶,其结构上分为细胞外配体结合区、跨膜区及细胞内酪氨酸激酶区三部分。ErbB 受体家族中除了 HER2 外都需要与配体结合。配体与受体结合后,引起受体的同型或异型二聚化,二聚化的受体发生交联磷酸化,从而激活细胞内的酪氨酸激酶区,进一步激活下游的信号通路,包括 Ras/Raf/MAPK(mitogen-activated protein kinase) 通路[胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)]、磷酸酰肌醇-3 激酶(PI3K)/AKT 通路、信号转导子和转录激活子(signal transducer and activator of tran-

scription, STATs) 及其他通路,引起一系列细胞反应,包括促进信号传导和细胞的生长分化、加速细胞周期进行、促进血管形成等^[8,16]。在已知的下游信号中,ERK1/2 调节细胞生长和分化,而 AKT 及信号转导子和转录激活子则主要调节细胞生长和凋亡。

2.2 EGFR 基因突变与 TKI 临床疗效的关系

EGFR 基因位于 7 号染色体短臂 7p12~14 区,由 28 个外显子组成。EGFR 在许多肿瘤中过表达,与肿瘤的生长侵袭及转移密切相关。在肺癌中,EGFR 突变多出现于外显子 18~21 区。最常见的突变包括 19 区的缺失突变(deletion)和 21 区的点突变(point mutation),这两种突变约占所有 EGFR 突变的 85%~90%^[17-19]。外显子 19 区的碱基缺失主要是第 746~752 位密码子的缺失突变,导致 EGFR 蛋白中氨基酸序列丢失,这一缺失改变了受体酪氨酸激酶 ATP 结合槽(ATP-binding cleft)的角度,从而改变了细胞对 TKIs 的敏感性。外显子 21 的点突变主要是第 858 位密码子出现 T→G 转换,引起 EGFR 蛋白中该位点的氨基酸由亮氨酸转变为精氨酸(简称 L858R),此种结构改变也使细胞对 TKIs 的敏感性发生变化^[17]。其他 EGFR 突变比较少见,包括外显子 18 区的点突变和外显子 20 区的插入突变(insertion)。

Lynch 等^[12]通过对 16 例接受 Gefitinib 治疗的肺癌患者的 EGFR 测序,发现 9 例治疗有效的患者中 8 例存在基因突变(其中 4 例为外显子 19 区的缺失突变,2 例为外显子 21 区的点突变,1 例为外显子 18 区的点突变),而 7 例无效者均为野生型,首次揭示 EGFR 基因突变与药物疗效的关系。Paez 等^[13]也报道,在 9 例肺癌患者中,5 例 Gefitinib 治疗有效者均为 EGFR 突变型(4 例为外显子 19 区缺失突变,1 例为 L858R),而 4 例无效者均无 EGFR 突变。通过体外基因转染试验,Lynch 等^[12]发现带有 EGFR 突变的细胞对 EGF 的反应性提高,对 Gefitinib 的敏感性也增加,认为 EGFR 变异使得酪氨酸激酶 ATP 结合位点的关键基团发生重构,增强了 EGFR 与 ATP 或其竞争性抑制剂的相互作用。随后,这些发现不仅相继被美国、日本、加拿大和中国等的研究人员所证实,而且发现 EGFR 突变和患者的临床病理特征有明显的相关性。EGFR 突变多出现于非吸烟、女性以及亚洲的肺癌人群中,腺癌尤其是细支气管肺泡癌的 NSCLC 患者 EGFR 突变率较高^[10,12-13,15,17,20-23]。这些结果与不同种族及不同病理类型患者对 TKIs 不同的治疗有效率恰好相符。本实验室之前对 241 例 NSCLC 患者 EGFR 突变的

研究中也得出相同的结论,EGFR 突变在腺癌中的突变率(115/215,54%)明显高于鳞癌(0/15)和淋巴上皮瘤样癌(1/11,9%);在非吸烟者(71%)明显高于吸烟者(16%)。EGFR 突变还与性别及肿瘤的分化程度有关,在女性(66.4%)及高分化(64%)肿瘤中的突变率明显高于男性(33.3%)及低分化者(26.8%)^[19]。

2.3 TKIs 治疗耐受与 EGFR 二次突变

并不是所有的 EGFR 突变都会导致对 Gefitinib 或 Erlotinib 敏感性的增加,对 Gefitinib 或 Erlotinib 最初有反应的患者可发生二次突变而出现 TKI 治疗耐受。如 T790M,发生在 EGFR 外显子 20 区,编码的苏氨酸转变为甲硫氨酸;氨基酸的改变导致了 ATP 结合区结构改变,使得细胞对 TKIs 的敏感性降低^[20]。T790M 突变也可出现在未做治疗的患者中,之前的研究也证实了这种发现。因此,对于 EGFR 不同突变的功能有必要进一步研究,以明确某个或某几个突变是筛选适合 TKIs 治疗患者的最佳指标。

3 其他与 TKI 治疗反应性相关的因素

上述研究证明,EGFR 基因突变与 TKIs 治疗有效性明显相关,但没有研究证明基因突变与病情稳定率或生存率有关。Cappuzzo 等^[25]的研究发现,存在 EGFR 突变的 NSCLC 患者中仍有部分病情继续进展,没有表现出药物的任何治疗效果。相反,没有 EGFR 突变的患者中有 32% 在应用 Gefitinib 后病情得到控制。因此,除 EGFR 基因突变外,其他因素也参与了肿瘤对 TKIs 治疗的反应性。

3.1 EGFR 基因扩增和 CA 重复序列的多态性

在 BR. 21 研究中,表达 EGFR 或存在 EGFR 基因扩增的患者对 Erlotinib 治疗反应好,并且生存率得到明显提高^[10]。UCCC 的研究发现,EGFR 的高拷贝数与对药物较好的反应率、疾病控制率和存活率相联系,而 EGFR 蛋白的高表达与好的治疗结果之间的关联度则次之,同时 EGFR 突变与较好的反应率和预后有关。但进一步的统计分析表明只有高的 EGFR 基因拷贝数对应较高的存活率^[25]。因此说明,EGFR 基因扩增可作为筛选 TKIs 治疗的指标之一。

另有研究^[26]发现,位于 EGFR 内含子 1 的 CA 重复序列的多态性可影响 EGFR 的蛋白表达,低重复 CA 数患者 EGFR 的 RNA 和蛋白表达高于高重复 CA 数的患者,体外实验也证实低重复 CA 数细胞对 Gefitinib 的敏感性较高。

3.2 EGFR 通路下游信号的激活

EGFR 下游信号也参与了肿瘤对 TKIs 治疗的反应性。体外实验发现突变型 EGFR 选择性地激活 AKT 和 STAT 信号而非 ERK1/2,以促进肺癌细胞生存^[27]。Cappuzzo 等^[25]发现,Gefitinib 对 p-AKT 阳性(p-磷酸化)、p-MAPK 阴性的肿瘤疗效最好,而对 p-AKT 阴性、p-MAPK 阳性者无效。对 Gefitinib 较为敏感的患者,如女性、非吸烟史者及 BAC 患者等,p-AKT 阳性率显著升高^[28]。提示 p-AKT 可以作为 EGFR 分子靶向治疗的一个指示剂。

3.3 EGFR 家族其他成员——HER2/HER3

HER2 可与 EGFR 结合形成异源二聚体,引发受体自身磷酸化过程。有研究认为,HER-2 基因拷贝数增加的肿瘤对 Gefitinib 更敏感^[29]。但亦有研究发现,FISH(原位荧光杂交)检测 HER2 或 HER3 阳性肿瘤与阴性肿瘤相比,两组患者的病程进展时间及平均存活时间均没有显著差异^[30]。但是在体外细胞株的实验中,不论有无 EGFR 突变存在,HER2 和(或)HER3 高表达的细胞表现出对 Gefitinib 较高的敏感性^[8,31]。

3.4 K-RAS 基因突变

K-RAS 是 EGFR 信号通路下游的基因。与 EGFR 基因突变相反,K-RAS 突变常见于吸烟者和分化差的肿瘤,我们的研究也证实了这点。而且发生 K-RAS 突变的 NSCLC 并不同时出现 EGFR 突变,这两种基因的突变是互相排斥的,提示 K-RAS 突变可以作为肿瘤对 TKIs 治疗不敏感的指标,这部分患者应采用其他方式的治疗^[17,19,21-23]。

4 NSCLC 其他分子靶向治疗的发展潜能

Cetuximab 是针对 EGFR 细胞外结构域的单克隆抗体。TKIs 与 EGFR 细胞内的酪氨酸激酶区相结合,Cetuximab 则与细胞表面受体相结合而产生抗体依赖性的细胞毒性,与细胞是否存在 EGFR 突变无关。EGFR 过度表达的肿瘤对 Cetuximab 的敏感性增加。体外实验发现,外显子 19 区存在 EGFR 缺失突变及基因扩增的细胞株,Gefitinib、Erlotinib 或 Cetuximab 都可诱导其凋亡。而 Cetuximab 对其他突变类型的细胞则基本无抑制作用^[8-9]。尽管 Cetuximab 已批准用于结肠直肠癌的治疗,其在 NSCLC 中的作用还需进一步明确。

EGFR 激活可促进血管形成因子 VEGF 和 IL-8 因子的表达,从而促进瘤血管形成及侵袭和转移。I/II 期的临床试验发现,抗 VEGF 单克隆抗体 Bevacizumab 和 Erlotinib 联合用药,具有明显的抗肿瘤特性^[32]。其他的应用 VEGF 受体酪氨酸激酶抑制

剂的临床实验也在进行中,这些药物是否能有的治疗效果还需更多的研究。

最近报道,EGFR 细胞外结构域的 EGFRv III 缺失突变出现于部分肺鳞癌(5%)中。动物实验发现,EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 HKI-272 可有效抑制存在 EGFRv III 突变的肺肿瘤,提示 HKI-272 在治疗 EGFRv III 突变肺癌上存在潜能。

综上所述,以 EGFR 受体酪氨酸激酶为靶点抗肿瘤药物已经成为晚期肺癌治疗的一种新选择。由于 NSCLC 中 EGFR 基因突变与 TKIs 治疗敏感性显著相关,临床上应根据 EGFR 突变情况来选择用药。针对 TKIs 不敏感的患者,需要发展可对抗 EGFR 二次突变以及其他调控分子的新的靶向药物。

[参 考 文 献]

- [1] Lam TH, Leung PY, Foo W, *et al.* Report of cancer expert working group on cancer prevention and screening[R]. Hong Kong, 2004.
- [2] Schwartz AG, Prysak GM, Bock CH, *et al.* The molecular epidemiology of lung cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(3): 507-518.
- [3] Stewart BW, Kleihues P. World cancer report[R]. Geneva: International agency for research on cancer, 2003.
- [4] Toh CK, Gao F, Lim WT, *et al.* Never - smokers with lung cancer: Epidemiologic evidence of a distinct disease entity[J]. *J Clin Oncol* 2006, 24(15): 2245-2251.
- [5] WHO. World cancer report provides clear evidence that action on smoking, diet and infections can prevent one third of cancers, another third can be cured[R]. Geneva: WHO Media Centre Press Release, 2003.
- [6] Yu IT, Chiu YL, Au JS, *et al.* Dose-response relationship between cooking fumes exposures and lung cancer among Chinese nonsmoking women[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(9): 4691-4697.
- [7] Raben D, Helfrich B, Bunn PA Jr. Targeted therapies for non-small-cell lung cancer: Biology, rationale, and preclinical results from a radiation oncology perspective[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 59(2 Suppl 1): S27-S38.
- [8] Ono M, Kuwano M. Molecular mechanisms of epidermal growth factor receptor (EGFR) activation and response to gefitinib and other EGFR-targeting drugs[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(24): 7242-7251.
- [9] Rosell R, Taron M, Reguart N, *et al.* Epidermal growth factor receptor activation: How exon 19 and 21 mutations changed our understanding of the pathway[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(24): 7222-7231.
- [10] Shepherd FA, Rodrigues PJ, Ciuleanu T, *et al.* Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(2): 123-132.
- [11] Thatcher N, Chang A, Parikh P, *et al.* Gefitinib plus best supportive care in previously treated patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer: Results from a randomised, placebo-controlled, multicentre study (irecta survival evaluation in lung cancer) [J]. *Lancet*, 2005, 366(9496): 1527-1537.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] Huang SF, Liu HP, Li LH, *et al.* High frequency of epidermal growth factor receptor mutations with complex patterns in non-small cell lung cancers related to gefitinib responsiveness in taiwan[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(24): 8195-8203.
- [15] 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.
- [16] Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, *et al.* The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer[J]. *EMBO J*, 2000, 19(13): 3159-3167.
- [17] Gazdar AF, Shigematsu H, Herz J, *et al.* Mutations and addiction to EGFR: The achilles ' heel ' of lung cancers[J]? *Trends Mol Med*, 2004, 10(10): 481-486.
- [18] Pao W, Miller VA. Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: Current knowledge and future directions[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(11): 2556-2568.
- [19] Tam IYS, Chung LP, Suen WS, *et al.* Distinct epidermal growth factor receptor and KRAS mutation patterns in non-small cell lung cancer patients with different tobacco exposure and clinicopathologic features[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(5): 1647-1653.
- [20] Calvo E, Baselga J. Ethnic differences in response to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(14): 2158-2163.
- [21] 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.
- [22] Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, *et al.* Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(5): 339-346.
- [23] Soung YH, Lee JW, Kim SY, *et al.* Mutational analysis of EGFR and K-RAS genes in lung adenocarcinomas[J]. *Virchows Arch*, 2005, 446(5): 483-488.
- [24] 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.
- [25] Cappuzzo F, Hirsch FR, Rossi E, *et al.* Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small-cell lung cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(9): 643-655.
- [26] Brandt B, Meyer-Staekling S, Schmidt H, *et al.* Mechanisms of egfr gene transcription modulation: Relationship to cancer risk and therapy response[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(24): 7252-

- 7260.
- [27] Sordella R, Bell DW, Haber DA, *et al.* Gefitinib-sensitizing EGFR mutations in lung cancer activate anti-apoptotic pathways[J]. *Science*, 2004, 305(5687): 1163-1167.
- [28] Cappuzzo F, Magrini E, Ceresoli GL, *et al.* Akt phosphorylation and gefitinib efficacy in patients with advanced non-small-cell lung cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004, 96(15): 1133-1141.
- [29] Cappuzzo F, Varella-Garcia M, Shigematsu H, *et al.* Increased HER2 gene copy number is associated with response to gefitinib therapy in epidermal growth factor receptor-positive non-small-cell lung cancer patients[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(22): 5007-5018.
- [30] Cappuzzo F, Toschi L, Domenichini I, *et al.* HER3 genomic gain and sensitivity to gefitinib in advanced non-small-cell lung cancer patients[J]. *Br J Cancer*, 2005, 93(12): 1334-1340.
- [31] Ono M, Hirata A, Kometani T, *et al.* Sensitivity to gefitinib (Iressa, ZD1839) in non-small cell lung cancer cell lines correlates with dependence on the epidermal growth factor (EGF) receptor/extracellular signal-regulated kinase 1/2 and EGF receptor/Akt pathway for proliferation[J]. *Mol Cancer Ther*, 2004, 3(4): 465-472.
- [32] Herbst RS, Johnson DH, Mininberg E, *et al.* Phase I/II trial evaluating the anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody bevacizumab in combination with the HER-1/epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor erlotinib for patients with recurrent non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(11): 2544-2555.
- [33] Ji H, Zhao X, Yuza Y, *et al.* Epidermal growth factor receptor variant III mutations in lung tumorigenesis and sensitivity to tyrosine kinase inhibitors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(20): 7817-7822.
- [收稿日期] 2007 - 03 - 10 [修回日期] 2007 - 04 - 05
[本文编辑] 王莹

· 科技动态 ·

热休克蛋白 gp96: Toll 样受体的主要伴侣蛋白

gp96, 又名 grp94, 为一相对分子质量 96 000 的糖蛋白, 是热休克蛋白 90 家族的成员之一, 高度丰富地表达于所有细胞的内质网中。类似于其他的热休克蛋白, gp96 可被环境压力及累积的错误折叠蛋白所诱导。gp96 的重要功能就是它的分子伴侣作用, 在内质网中结合并水解 ATP 后, gp96 可以辅助新合成的蛋白正确折叠和组装, 促进错误折叠蛋白的降解。迄今发现, gp96 可以辅助伴侣约 20 种蛋白的表达, 如免疫球蛋白重链, 整合素等。

Toll 样受体(TLRs)是一类重要的模式识别受体, 通过识别病原微生物特定的病原体相关分子模式启动天然免疫应答, 在抵抗和清除病原微生物的感染、维持机体免疫系统的稳态方面发挥重要的作用。然而, 过度活化或者活化异常可能引起急性和慢性疾病, 如中毒性休克、自身免疫病等。因而, TLRs 的活化必须受到严密的调控。目前发现一些胞内分子, 如 IRAK-M、SOCS1 等可负向调节 TLR4 信号。另外, TLR 信号也可通过在受体的基因或蛋白表达水平上调节, 如 TRIAD3A 可结合 TLR2 或 TLR9 启动泛素依赖的受体蛋白降解。那么热休克蛋白如 gp96 是否通过对 Toll 样受体蛋白的伴侣作用来调控 TLR 的信号转导? 该研究对这一问题进行了探索, 利用巨噬细胞特异的 gp-96 条件性敲除的小鼠模型, 发现 gp-96 是 Toll 样受体的重要而且主要的伴侣分子, 在巨噬细胞的先天免疫功能中起重要作用。

巨噬细胞特异的 gp-96 条件性敲除的小鼠有着正常的造血细胞、免疫细胞的组成、分布和分化, 以及由 TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子介导的巨噬细胞正常的活化, 但巨噬细胞对几乎所有的 TLR(TLR1-TLR9)配体刺激呈现无反应的状态, 无 IL-6、IL-12、TNF- α 等炎症因子的产生。然而 gp-96 缺陷的巨噬细胞在 IL-1b 刺激后正常地分泌 IL-6、TNF- α 等, IL-1b 的信号途径与 TLR 的 MyD88 途径类似, 这表明 gp-96 缺陷巨噬细胞上的 TLR 胞内信号传导途径是正常的。进一步的研究发现巨噬细胞表面不表达上述 TLRs, 但全细胞中 TLRs mRNA 及蛋白表达水平却为正常。激光共聚焦显微镜观察显示, gp-96 缺陷的巨噬细胞中 TLR 大量地滞留在内质网中。免疫沉淀结果显示 gp-96 可以跟 TLR-9 结合, 且他们的结合依赖于 gp-96 的糖基化及 Ca²⁺ 的存在。上述结果表明, gp-96 通过在内质网中发挥其伴侣作用, 辅助 TLR 蛋白的折叠和组装, 促使其正确的表达于细胞膜上。gp-96 缺陷的巨噬细胞中位于内质网的其他伴侣蛋白(如 calnexin, Bip, ERp72 等)并没有出现代偿性的表达增强, 表明 gp-96 是一主要的 TLR 伴侣蛋白。巨噬细胞特异的 gp-96 条件性敲除的小鼠对内毒素休克的反应降低, 较正常小鼠更能耐受 LPS 的冲击。而 gp-96 条件性敲除小鼠对李斯特单核杆菌高度易感, 细菌不能被清除, 引起肝脾的严重损伤。动物实验的结果表明, gp-96 在巨噬细胞的先天免疫功能中起重要的作用。

该研究详尽地证实了 gp-96 是 TLRs 的非常重要的伴侣分子, 在巨噬细胞的正常功能发挥中扮演重要的角色。另外, 联系到热休克蛋白还可作为部分 TLR(如 TLR2, TLR4)的胞内配体, 表明热休克蛋白与 TLR 信号之间存在密切的关系。

[刘星光 摘译, 李楠 审阅. Yang Y, Liu B, Dai J, *et al.* *Immunity*, 2007, 26(2): 215-226.]