

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.03.020

大肠癌治疗中 EGFR 耐药相关分子

EGFR resistance related molecules in the therapy of colorectal cancer

王铭 综述;张丽华 审阅(东南大学附属中大医院 病理科,江苏 南京 210000)

[摘要] 随着医学分子生物学技术的发展和人们对大肠癌分子发病机制的深入研究,以表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)为靶点的分子靶向治疗在大肠癌的治疗中作用显著。其中,以西妥昔单抗和帕尼单抗为代表的抗 EGFR 单抗为大肠癌患者带来了福音,EGFR 过表达的患者对 EGFR 单抗治疗敏感、疗效显著,但无论近期疗效如何,患者最终都不可避免的产生耐药性及病情进展。因此,了解抗 EGFR 单抗耐药机制有利于指导大肠癌患者的临床治疗。

[关键词] 表皮生长因子受体;大肠癌;西妥昔单抗;帕尼单抗;耐药

[中图分类号] R735.3; R730.5 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2017)03-0328-04

大肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率均居全球恶性肿瘤第三位,转移性大肠癌五年生存率低于 12.5%^[1]。无法手术或手术后仍然复发、转移的大肠癌患者,主要依靠氟尿嘧啶类、铂类和伊立替康等药物为主的化疗,但易产生耐药性^[2]。近年国际上出现的分子靶向治疗手段,为大肠癌治疗开辟了一条新的路径。分子靶向治疗结合化疗药正在成为除手术、放疗和单纯化疗以外治疗大肠癌的第 4 种方法。目前,大肠癌患者临床常用的靶向治疗药物主要有 VEGF 单抗和 EGFR 单抗^[3]。约 65%~70% 的大肠癌中存在表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)高表达,以 EGFR 为靶点的靶向治疗在大肠癌的治疗中取得明显的效果^[4,5],但是令人遗憾的是,由于原发性耐药性的缘故,只有约 10% 患者对 EGFR 单抗治疗敏感,并且治疗 3~18 个月后几乎所有的患者最终都会出现继发性耐药,导致病情复发或进展,中位生存率仅为 20 个月^[6]。因此,全面了解 EGFR 单抗治疗的耐药机制,探讨克服耐药的策略成为亟待完成的问题。本文总结了 EGFR 单抗治疗以及引起单抗治疗原发性耐药和继发性耐药可能的蛋白分子,以期为大肠癌的个体化治疗提供参考。

1 EGFR 及其单抗

EGFR 是一种酪氨酸激酶受体,属于 erbB 受体家族,为跨膜蛋白,主要由胞外结构域、穿膜区和胞内结构域组成。当 EGF、TGF α 等配体与 EGFR 结合后,激活细胞内多个信号通路,包括 RAS-RAF-MAPK、PI3K-AKT、蛋白激酶 C、STAT3 和 c-Src 激酶等多条通路,其中 K-RAS/B-RAF-MEK-ERK 和 PTEN-PI3K-AKT-mTOR 是两条关键通路,这些信号

通路不但参与正常组织细胞的增殖分化,还在肿瘤细胞的增殖、转移等方面发挥重要作用^[7]。65%~70% 的结直肠癌存在 EGFR 的高表达,高表达的 EGFR 导致其酪氨酸激酶活性异常上调,正常信号通路被干扰,从而促进细胞增殖、迁移、侵袭并抑制凋亡发生。西妥昔单抗和帕尼单抗都是靶向作用于 EGFR 的单克隆抗体,它们与 EGFR 胞外结构域竞争性结合,阻断受体相关酶的磷酸化,从而阻断下游信号转导通路,抑制肿瘤细胞增殖,诱导凋亡^[8]。大量临床研究证实,转移性结直肠癌患者可以从西妥昔单抗或帕尼单抗联合一线化疗药的治疗中明显获益,但该治疗药物并不是对所有患者均有效,只有 10% 复发难治的转移性结直肠癌患者对帕尼单抗或西妥昔单抗治疗有反应,其治疗效果与肿瘤患者体内其他蛋白的突变或活化状态有密切关系^[6,9]。

2 相关耐药分子

2.1 RAS

大多数人类细胞中都表达 RAS 基因,其家族包括 H-RAS、N-RAS、k-RAS 三个成员。RAS 蛋白为膜结合型的 GTP/GDP 结合蛋白,通过 GTP 和 GDP 的相互转化可以有节制的调节 RAS 对信号系统的开启和关闭,完成生长分化信号传入细胞内的过程^[10]。RAS 蛋白能够激活丝氨酸(苏氨酸)激酶 RAF、丝裂原激活蛋白激酶 ERK1 和 ERK2、磷脂酰肌醇-3 激酶,以及促进细胞增殖的多种蛋白质。在

[作者简介] 王铭(1987-),女,博士生,技师,主要从事肿瘤发生发展相关分子机制的研究,E-mail: wangyoucao198710@126.com

[通信作者] 张丽华(ZHANG Lihua, corresponding author),博士,主任医师,硕士生导师,主要从事消化系统疾病和肿瘤、肝移植病理、妇科病理、乳腺病理的研究,E-mail: 15905179393@126.com

EGFR 单抗和化疗药合用的一线 and 二线治疗中, *RAS* 基因全部野生型的大肠癌患者可以在治疗中明显获益, 35% ~ 50% 的大肠癌患者存在 *RAS* 基因突变, 这些患者不能从 EGFR 单抗治疗中获益^[11]。近期研究结果^[12-13]显示, *KRAS* 基因 2 号外显子 12、13 密码子常见突变, 3、4 号外显子 59、61、117、146 密码子稀有突变, *NRAS* 2、3、4 号外显子 12、13、59、61、117 密码子突变均提示患者在 EGFR 单抗合并化疗药的一线治疗中无获益。

约 35% ~ 45% 大肠癌患者存在 *KRAS* 基因突变, 3% ~ 5% 大肠癌患者存在 *NRAS* 突变^[11], 其中 *KRAS* 第 2 号外显子突变是抗 EGFR 单抗治疗耐药的首要因素^[12]。*RAS* 基因状态是大肠癌患者选择治疗方案和预测 EGFR 单抗疗效的一个重要指标, 在许多国家 *RAS* 基因突变状态的筛查已成为 EGFR 单抗治疗的标准策略。

2.2 BRAF

约 4% ~ 13% 转移性结直肠癌患者发生 *BRAF* 基因突变^[14-15]。与其他恶性肿瘤(如甲状腺癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌等)的情况一致^[15], 15 号外显子第 600 个密码子由缬氨酸突变为谷氨酸(V600E)是 *BRAF* 最常见的突变, 约占 *BRAF* 突变的 80%, 且与 *RAS* 突变不同时存在。V600E 突变使 *BRAF* 蛋白持续激活, 活化下游 MEK-ERK 信号通路, 促进细胞增殖、存活, 是患者预后较差的一个有力标志物^[16]。与 *RAS* 突变不同, *BRAF* V600E 突变是否能提示大肠癌患者在 EGFR 单抗合并化疗药的一线治疗中的受益情况尚存在争议^[16-19]。

2.3 PIK3CA

约 15% ~ 20% 大肠癌患者存在 *PIK3CA* 突变, 超过 80% *PI3KA* 突变发生在 9 号(约 60% ~ 65%) 和 20 号外显子(约 20% ~ 25%)^[15, 20], 这些突变导致 *PIK3CA* 组成型活化, 持续激活 AKT/mTOR 信号通路, 促进细胞增殖和存活。欧洲一项大型针对 EGFR 单抗治疗后耐药的 708 例大肠癌患者回顾性研究显示: 与 *PIK3CA* 野生型患者相比, 20 位外显子突变患者无进展生存期和总生存期明显缩短, 而第 9 位外显子突变的患者无此现象; 此外, *PIK3CA* 20 位外显子突变与 *KRAS* 突变不能同时发生, 但是第 9 位外显子突变常伴随 *KRAS* 突变^[15]。此研究提示, 20 位外显子突变的 *PIK3CA* 可能是引起 EGFR 单抗治疗耐药的分子。

2.4 EGFR

大肠癌患者的 EGFR 胞外结构域 S492R 突变使 EGFR 不能与西妥昔单抗结合, 但是不影响和帕

尼单抗结合, 认为 EGFR 胞外结构域 S492R 突变是大肠癌继发性耐药分子机制之一^[21-22]。除了常见的 492 位点, Bardelli 和 Montagut 研究组^[23]在西妥昔单抗耐药大肠癌组织和细胞模型中都检测到 EGFR 胞外结构域新的点突变, 癌组织(R451C 和 K467T)和细胞模型(R451C、K467T、S464L、G465R、I491M)中 *EGFR* 突变有重合但不完全一致。除了 R451C, 其他突变都使 EGFR 不能与西妥昔单抗结合, 但其与帕尼单抗的结合能力不受影响。高灵敏度筛查技术显示, 16% 接受西妥昔单抗治疗患者可发生上述突变, 但接受帕尼单抗治疗患者的突变比例仅 1%。

2.5 HER2

HER2 是 *erbB* 家族唯一不需要与配体结合就可以活化的分子, 它的活化依赖于与 *erbB* 家族其他分子的异源二聚化^[24]。基因扩增引起的过表达 Her2, 可以不依赖于其异源二聚体蛋白与配体结合而活化。Yonesaka 等^[25]和 Bertotti 等^[26]的研究结果都显示, HER2 高表达与大肠癌患者 EGFR 单抗治疗获得性耐药有关。虽然现在的结果比较初步且不全面, 但 HER2 高表达可以作为反映大肠癌患者抗 EGFR 治疗效果的一个潜在指标。

2.6 其他分子

大肠癌患者 EGFR 单抗耐药性也涉及到非遗传学改变, 如代偿性激活与 EGFR 平行的其他酪氨酸激酶, EGFR 可以和 HER3 形成异源二聚体激活下游 PI3K 和 MAPK 信号通路^[27]。另外, 多个研究阐述了 EGFR 配体如上皮调节蛋白、双调蛋白等和西妥昔单抗治疗敏感性之间的关系, 它们的过表达可以通过分泌循环促进肿瘤生长和存活, 从而使肿瘤产生耐药^[28]。此外, 基质细胞异常表达 HGF 也可使大肠癌细胞对单抗不敏感^[29]。

另外, 西妥昔单抗耐药细胞模型研究显示, Src 家族激酶介导 EGFR 向细胞核移位, 进而在细胞核中累积, 作为转录因子促进 cyclinD1、iNOS、B-myb、AuroraA 表达, 同时它还可以磷酸化 PCNA 促进其稳定, 参与耐药过程^[30]。

3 结 语

针对 EGFR 靶向治疗在大肠癌治疗中发挥举足轻重的作用, 它不仅延长患者的生存期, 也能明显改善患者的生活质量。虽然部分患者对单抗治疗敏感, 但其原发性和获得性耐药仍是一个主要的临床问题。充分了解耐药机制有助于寻找能够预测疗效和指导治疗策略的分子标志物, 研发更有效、有针

对性的靶向药物,有可能使肿瘤的个体化靶向治疗成为现实,从而改善大肠癌患者的治疗效果。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R, DESANTIS C, JEMAL A. Colorectal cancer statistics, 2014[J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(2): 104-117. DOI: 10.3322/caac.21220.
- [2] BINEFA G, RODRIGUEZ-MORANTA F, TEULE A, et al. Colorectal cancer: from prevention to personalized medicine[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(22): 6786-6808. DOI: 10.3748/wjg.v20.i22.6786.
- [3] PEETERS M, PRICE T. Biologic therapies in the metastatic colorectal cancer treatment continuum-- applying current evidence to clinical practice[J]. *Cancer Treat Rev*, 2012, 38(5): 397-406. DOI: 10.1016/j.ctrv.2011.08.002.
- [4] LIEN K, BERRY S, KO Y J, et al. The use of EGFR inhibitors in colorectal cancer: is it clinically efficacious and cost-effective? [J]. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*, 2015, 15(1): 81-100. DOI: 10.1586/14737167.2015.982100.
- [5] KOCOGLU H, VELIBEYOGLU F M, KARACA M, et al. Clinical efficacy and drug resistance of anti- epidermal growth factor receptor therapy in colorectal cancer[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2016, 8(1): 1-7. DOI: 10.4251/wjgo.v8.i1.1.
- [6] VAN CUTSEM E, PEETERS M, SIENA S, et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy- refractory metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(13): 1658-1664. DOI: 10.1200/JCO.2006.08.1620.
- [7] EL ZOUHAIRI M, CHARABATY A, PISHVAIAN M J. Molecularly targeted therapy for metastatic colon cancer: proven treatments and promising new agents[J]. *Gastrointest Cancer Res*, 2011, 4(1): 15-21.
- [8] FALCHOOK G S, KURZROCK R. VEGF and dual-EGFR inhibition in colorectal cancer[J]. *Cell Cycle*, 2015, 14(8): 1129-1130. DOI: 10.1080/15384101.2015.1022071.
- [9] CUNNINGHAM D, HUMBLET Y, SIENA S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(4): 337-345. DOI: 10.1056/NEJMoa033025.
- [10] BRAND T M, LIDA M, WHEELER D L. Molecular mechanisms of resistance to the EGFR monoclonal antibody cetuximab[J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11(9): 777-792.
- [11] TAN C, DU X. KRAS mutation testing in metastatic colorectal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(37): 5171-5180. DOI: 10.3748/wjg.v18.i37.5171.
- [12] HERREROS-VILLANUEVA M, CHEN C C, YUAN S S, et al. KRAS mutations: analytical considerations[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 431: 211-220. DOI: 10.1016/j.cca.2014.01.049.
- [13] WARING P, TIE J, MARU D, et al. RAS Mutations as predictive biomarkers in clinical management of metastatic colorectal cancer [J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2016, 15(2): 95-103. DOI: 10.1016/j.clcc.2015.10.006.
- [14] de ROOCK W, CLAES B, BERNASCONI D, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(8): 753-762. DOI: 10.1016/S1470-2045(10) 70130-3.
- [15] DI NICOLANTONIO F, MARTINI M, MOLINARI F, et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(35): 5705-5712. DOI: 10.1200/JCO.2008.18.0786.
- [16] LAURENT-PUIG P, CAYRE A, MANCEAU G, et al. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(35): 5924-5930. DOI: 10.1200/JCO.2008.21.6796.
- [17] KARAPETIS C S, JONKER D, DANESHMAND M, et al. PIK3CA, BRAF, and PTEN status and benefit from cetuximab in the treatment of advanced colorectal cancer--results from NCIC CTG/AGITG CO.17[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(3): 744-753. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0606.
- [18] DE ROOCK W, CLAES B, BERNASCONI D, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(8): 753-762. DOI: 10.1016/S1470-2045(10) 70130-3.
- [19] VAN CUTSEM E, KOHNE C H, LANG I, et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(15): 2011-2019. DOI: 10.1200/JCO.2010.33.5091.
- [20] PRENEN H, DE SCHUTTER J, JACOBS B, et al. PIK3CA mutations are not a major determinant of resistance to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab in metastatic colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(9): 3184-3188. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2961.
- [21] MONTAGUT C, DALMASES A, BELLOSILLO B, et al. Identification of a mutation in the extracellular domain of the epidermal growth factor receptor conferring cetuximab resistance in colorectal cancer[J]. *Nat Med*, 2012, 18(2): 221-223. DOI: 10.1038/nm.2609.
- [22] ESPOSITO C, RACHIGLIO A M, LA PORTA M L, et al. The S492R EGFR ectodomain mutation is never detected in KRAS wild-type colorectal carcinoma before exposure to EGFR monoclonal antibodies[J]. *Cancer Biol Ther*, 2013, 14(12): 1143-1146. DOI: 10.4161/cbt.26340.
- [23] ARENA S, BELLOSILLO B, SIRAVEGNA G, et al. Emergence of multiple EGFR extracellular mutations during cetuximab treatment in colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(9): 2157-2166. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2821.
- [24] HYNES N E, LANE H A. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(5): 341-354. DOI: 10.1038/nrc1609.

- [25] YONESAKA K, ZEJNULLAHU K, OKAMOTO I, et al. Activation of ERBB2 signaling causes resistance to the EGFR-directed therapeutic antibody cetuximab[J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(99): 99ra86. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002442.
- [26] BERTOTTI A, MIGLIARDI G, GALIMI F, et al. A molecularly annotated platform of patient-derived xenografts (“xenopatiens”) identifies HER2 as an effective therapeutic target in cetuximab-resistant colorectal cancer[J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(6): 508-523. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-11-0109.
- [27] TEMRAZ S, MUKHERJI D, SHAMSEDDINE A. Dual targeting of HER3 and EGFR in colorectal tumors might overcome anti-EGFR resistance[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2016, 101: 151-157. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2016.03.009.
- [28] ARENA S, BELLOSILLO B, SIRAVEGNA G, et al. Emergence of multiple EGFR extracellular mutations during cetuximab treatment in colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(9): 2157-2166. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2821.
- [29] LURAGHI P, REATO G, CIPRIANO E, et al. MET signaling in colon cancer stem-like cells blunts the therapeutic response to EGFR inhibitors[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(6): 1857-1869. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2340-T.
- [30] SONG N, LIU S, ZHANG J, et al. Cetuximab-induced MET activation acts as a novel resistance mechanism in colon cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(4): 5838-5851. DOI: 10.3390/ijms15045838.
- [收稿日期] 2016 - 09 - 06 [修回日期] 2017 - 01 - 29
[本文编辑] 宋关鸿

· 读者 · 作者 · 编者 ·

正确使用数的修约规则

在生物医学领域的各种研究中,对实验测定和计算所得的数据往往都要进行修约。过去习惯使用“四舍五入法”进行数的修约,该方法是不正确的,我们应将其废除。根据国家标准《出版物上数字用法的规定》,数的修约应遵照“四舍六入”的法则进行,具体介绍如下:

- (1) 数的修约规则的简明口诀: 4 舍 6 入 5 看后, 5 后有数便进 1, 5 后为 0 看左数, 左数奇进偶舍弃。
- (2) 数的修约操作示例见表 1。

表 1 数的修约操作示例

口 诀	示 例	
	已知数	修约数(设保留 1 位小数)
4 舍 6 入 5 看后	5.741 8	5.7
	5.761 8	5.8
5 后有数便进 1	5.751 8	5.8
5 后为 0 看左数		
左为奇数要进 1	5.750 0	5.8
左为偶数则舍弃	5.650 0	5.6
	5.050 0	5.0(0 为偶数)
无论舍弃多少位	5.745 46	5.7(不是由 5.7455→
均须一次修完毕		5.746→5.75→5.8)

(本刊编辑部)