

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.06.013

· 综述 ·

靶向EGFR治疗头颈部鳞状细胞癌及其耐药机制

Targeting EGFR in the treatment of squamous cell carcinoma of head and neck and its drug resistance mechanism

谭张雪¹综述;安家兴²,王倩¹审阅(1.遵义医科大学口腔医学院 贵州省普通高等学校 口腔疾病研究特色重点实验室&遵义市口腔疾病研究重点实验室,贵州 遵义 563000; 2.遵义医科大学附属医院 消化内科,贵州 遵义 563000)

[摘要] 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)的发生、发展中起着至关重要的作用。作为一种跨膜受体,EGFR参与多种信号通路,且在头颈部鳞状细胞癌组织中高表达。目前,围绕EGFR设计的HNSCC靶向治疗药物已经广泛应用于临床,但随之产生的耐药问题也日益受到关注。本文重点从信号通路、靶向药物治疗和耐药等方面综述EGFR在治疗头颈部鳞状细胞癌的最新研究进展,并探讨其发展前景。

[关键词] 表皮生长因子受体(EGFR);头颈部鳞状细胞癌(HNSCC);信号通路;靶向治疗;单克隆抗体;酪氨酸激酶抑制剂;耐药
[中图分类号] R739.91; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)06-0636-07

头颈部癌症是世界上第七大常见癌症,占全球所有癌症的2%~4%,每年约新增60万病例^[1]。头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)占头颈部肿瘤的90%,它起源于口腔、咽喉部和喉部,是一种常见的致死性疾病,病死率高达40%~50%^[2-3]。目前,临床治疗多采用手术辅助化疗等方法,但对某些患者特别是晚期患者而言,往往由于肿瘤细胞侵犯周围组织范围较广不符合手术指征,因此,迫切需要研究更有效的治疗方法。靶向治疗的发现为HNSCC的治疗提供了新的方法。靶向治疗可直接定位于肿瘤细胞的治疗靶点,有较高的精准性和有效性。目前,主要的靶向治疗靶点包括表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR/Erbb1/HER1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)^[4]和非编码RNA^[5]等。

EGFR属于受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)家族的主要成员之一,可以使磷酸化的酪氨酸残基与相应配体结合。EGFR参与多种信号通路的信号传递,广泛参与细胞和机体的生长调控,并且在HNSCC细胞中具有较高的表达量。目前,围绕EGFR设计的HNSCC靶向治疗药物已经广泛应用于临床。本文主要围绕EGFR治疗HNSCC及其产生耐药的机制研究进展作一综述。

1 EGFR与HNSCC

1.1 EGFR

EGFR基因定位于7号染色体短臂q22,全长110 kb,具有28个外显子。成熟的EGFR蛋白由1 210个氨基酸组成,分子量大小约为134 kDa。从

N-末端到C-末端,EGFR主要由胞外配体结合域,疏水跨膜区域和胞内激酶结构域三部分组成,胞外配体与EGFR结合后,EGFR与自身或人类表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor, HER)家族的其他蛋白形成同源或异源二聚体,然后激活其胞内的蛋白激酶活性以及C端的酪氨酸自磷酸化,从而引起下游多种信号通路的激活。EGFR、转化生长因子 α (transforming growth factor α , TGF- α)、B细胞生长因子(B-cell growth factor, BCGF)、肝素结合表皮生长因子(heparin-binding epidermal growth factor, HBEGF)、双调蛋白(amphiregulin, AREG)、调节蛋白(heregulin)和表皮调节素(epiregulin, EPR)等具有激活功能的配体常与EGFR在上皮表面结合,引导信号通路激活,进而在细胞的生长、增殖和分化等生理过程中发挥重要的作用^[6-7]。

1.2 EGFR与HNSCC

EGFR蛋白在50%~90%的HNSCC中都存在较

[基金项目] 遵义医科大学优秀青年人才资助项目(No.17zy-002);遵义医科大学研究生教育创新计划资助项目(No. ZYK036);贵州省普通高等学校科技拔尖人才资助项目[No.黔教合KY字(2016)080]。Project supported by the Excellent Young Talent Project of Zunyi Medical University (No. 17zy-002), the Postgraduate Education Innovation Program of Zunyi Medical University (No. ZYK036), and the Top Science and Technology Talent Project Higher Education Institution of Guizhou Province [No. Qian-Jiao-He KY Zi(2016)080]

[作者简介] 谭张雪(1996—),女,硕士生,主要从事头颈部鳞状细胞癌靶向基因的相关研究,E-mail:jennicatan@163.com

[通信作者] 王倩(WANG Qian, corresponding author),博士,副教授,硕士生导师,主要从事头颈部鳞状细胞癌、唇腭裂和口腔肿瘤的基础与临床研究,E-mail:qianwang07@126.com

高水平的表达^[8]。免疫组化分析^[9]显示,健康人的喉粘膜样本中 EGFR 不存在过表达的情况,而口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)患者标本中 EGFR 过表达率达 75.27%。当 EGFR 的表达水平升高时将会对鳞癌患者生存率有显著的负面影响^[10]。有文献^[11]表明,吸烟作为一种口腔疾病的常见促进因子,可以使 miR-133a-3p 介导的 EGFR 表达上调而进一步促进了 HNSCC 细胞的生长。

2 EGFR 下游的信号转导通路

EGFR 介导的信号转导途径参与了细胞的生长、增殖、转移和分化,抑制细胞凋亡,与肿瘤的发生发展密切相关。配体与 EGFR 的结合激发了 EGFR 自磷酸化和下游信号传导级联,主要涉及 RAS/RAF/MEK/ERK 通路和 PI3K/AKT/mTOR 通路^[12]。

2.1 RAS/RAF/MEK/ERK 通路

EGFR 二聚体形成后, Tyr1068 位点的磷酸化会导致 Grb2 和 SOS 蛋白的结合,并激活 RAS 蛋白^[13-14]。RAS 蛋白作为一种 GTPase,可以连接来自细胞表面 EGFR 的上游信号到 MAPK 级联以及癌症相关通路^[15]。活化的 RAS 诱导癌症细胞系中 RAF 从无活性状态转移到二聚活性状态并使 MEK 激酶磷酸化,最终激活胞外基质中的 ERK1/2,随后 pERK1/2 进入细胞核并调节与细胞增殖相关基因转录,从而调控细胞的生长与增殖^[16]。在 OSCC 细胞中,丝裂原激活蛋白激酶(MAPK, RAS/RAS/MEK/ERK)作为 EGFR 的主要下游效应因子之一,呈异常激活状态^[17]。其中在大多数细胞质的免疫组化反应中可以检测到 RAS 突变^[16]。有研究^[18]表明,肿瘤组织中 ERK 的磷酸化水平明显高于癌旁组织,进一步说明 RAS/RAF/MEK/ERK 通路在调控 HNSCC 的发生和发展中起关键作用。

2.2 PI3K/AKT/mTOR 通路

EGFR 下游另一条重要的信号途径是通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路传递的。EGFR 活化后可激活 PI3K,之后激活的 PI3K 磷酸化 PIP2,将其转化为 PIP3^[19]。PIP3 与 AKT/蛋白激酶 B 等胞质分子结合后激活 AKT,磷酸化雷帕霉素的相关分子靶点 mTOR,继而促进肿瘤细胞生长、增殖和转移^[20]。在 HNSCC 中,EGFR/PI3K/AKT/mTOR 常呈异常激活状态,对 HNSCC 肿瘤细胞的增殖具有重要作用。研究^[21-22]发现,在 HNSCC 中高表达的 miR-27a 通过直接抑制 AKT 和 mTOR 基因的表达,进而调节 EGFR/PI3K/AKT/mTOR 信号通路,从而抑制 HNSCC 细胞的增殖。SWICK 等^[23]实验结果表明,在体外 EGFR 单克隆抗体与小分子 mTOR 抑制剂的联合使用可使 PI3K/AKT/mTOR 信号通路被抑制,进而抑制了

HNSCC 细胞的增殖能力。PI3K 抑制剂 BYL719 和 BKM120 在包括 HNSCC 在内的多种实体肿瘤的临床前试验中所取得的研究成果,说明了抑制 PI3K 信号通路对肿瘤的发展具有重要的影响^[18,24]。另外一个潜在的治疗靶点是 mTOR 信号节点,据研究 mTOR 抑制剂和西妥昔单抗联合使用可产生协同抗肿瘤作用,联合靶向 mTOR 和 EGFR 信号转导被认为是治疗 HNSCC 的潜在策略。在 HNSCC 治疗机制中,相较于直接抑制 EGFR 的激活,抑制 EGFR 信号通路 PI3K/AKT/mTOR 分支的靶蛋白更能有效地降低 HNSCC 细胞的生长和增殖。siRNA 实验结果^[23]表明,抑制 EGFR/PI3K/AKT/mTOR 信号通路分支的靶蛋白比直接抑制 EGFR 的磷酸化,更能有效减少 HNSCC 细胞的生长和增殖。

3 EGFR 靶向治疗

随着研究的不断深入,EGFR 相关通路在 HNSCC 发生发展中的作用机制也日益明晰,因此,近年来也相继研制出许多相应的靶向药物。

3.1 单克隆抗体(Monoclonal Antibodies, mAbs)

mAbs 可通过竞争性抑制 EGF 和转化生长因子(transforming growth factor, TGF)等配体在胞外结合 EGFR,阻断下游信号传导,达到抑制 EGFR 功能的作用。有文献^[25-26]报道,传统细胞毒疗法通常是应用自然杀伤细胞介导细胞免疫,对健康组织产生的毒性作用较大,将 mAbs 与该疗法同时作用时能够大大降低毒性作用,同时还可以产生协同作用。而使用 EGFR mAbs 治疗的转移性头颈癌患者无论是在客观缓解率(ORR)还是在无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)均有明显改善,与单独化疗相比,在铂-氟尿嘧啶治疗方案中添加西妥昔单抗可改善 OS(中位数为 10.1 个月,而非 7.4 个月),说明 EGFR mAbs 应用于转移及复发 HNSCC 患者的治疗具有一定的有效性和安全性。

西妥昔单抗是一种抑制性 EGFR 单克隆抗体,可作为单一药物用于临床治疗,有实验^[21,27]显示,单一使用西妥昔单抗治疗 HNSCC 的患者的中位持续时间为 11 周,联合顺铂及化疗后临床效果更为显著,其 ORR 为 51.9%,PFS 为 6.2 个月,中位 OS 为 14.0 个月。作为一种新型药物,西妥昔单抗是一种嵌合的人鼠单克隆抗体,和 EGFR 的结合具有特异性,使用后可通过阻断 EGFR 的酪氨酸位点磷酸化使 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的传递受到抑制,进而有效抑制 HNSCC 细胞的生长^[23]。

尼莫妥珠单抗是一种中等亲和的抗 EGFR 抗体,它可以竞争性地抑制内源性配体与 EGFR 结合,阻断

EGFR介导的下游信号转导通路,从而抑制肿瘤细胞增殖,促进肿瘤细胞凋亡,抑制血管生成,激活自然杀伤细胞,刺激CD成熟,诱导细胞毒性T细胞^[28]。除此之外,尼莫单抗还可诱导特异性记忆T细胞对抗EGFR,从而使临床反应更长效^[29]。尼莫单抗联合低剂量顺铂或放疗在PFS、无病生存期和局部肿瘤控制方面优于顺铂和放疗^[30]。相比于西妥昔单抗抗体毒性强,可诱导靶向非肿瘤毒性,产生皮疹和低镁血症等毒副作用。尼莫妥珠单抗毒副作用少,且因其具有中等亲和力的特质,在EGFR过表达的肿瘤中较为常用。而在EGFR表达较低的肿瘤中,作为高亲和力抗体的西妥昔单抗疗效较好^[28]。

3.2 酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKIs)

吉非替尼(Gefitinib)、埃罗替尼(Erlotinib)和阿法替尼(Afatinib)是专门针对EGFR的酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs),目前已经批准用于治疗HNSCC^[31]。EGFR的单克隆抗体是通过与EGFR的胞外结构域结合进而阻止其与配体结合并阻断信号级联,而EGFR-TKIs与EGFR的胞内结构域结合从而抑制EGFR配体结合后产生的下游效应。EGFR-TKIs对EGFR的磷酸化有抑制作用,可降低p-EGFR水平。同时,相关研究^[32]也指出TKIs有抑制PI3K/AKT/mTOR通路中AKT磷酸化的作用。目前,EGFR-TKIs相关的药物已经发展到第三代。

3.2.1 第一代可逆的TKIs 以吉非替尼和埃罗替尼为代表,他们是抑制EGFR的酪氨酸激酶胞内结构域药物,通过与EGFR内酪氨酸激酶的ATP结合位点靶向结合以防止EGFR自体磷酸化,从而抑制下游信号传导,导致肿瘤细胞生长停滞或死亡。HOQUE等^[33]研究表明,吉非替尼、埃罗替尼能有效抑制A431-A6肿瘤细胞的细胞活力以及生长繁殖和迁移的能力。在HNSCC细胞系中,EGFR通常表达上调或被激活而产生磷酸化,小剂量的埃罗替尼即可对大多数肿瘤细胞产生生长抑制作用^[34]。但临床上,吉非替尼、埃罗替尼单药治疗复发性或者转移性HNSCC的总体应答率仅为1.4%~10.6%,且未能显著改善III~IV期HNSCC患者放化疗的疗效^[35]。同时有研究^[36]表明,在放化疗中加入埃罗替尼并不会增加PFS。由此,研究者将目光投向对第二代TKIs的研究。

3.2.2 第二代不可逆的TKIs 以阿法替尼为代表,它是一种不可逆的口服阻断剂,作为ATP的类似物,阿法替尼可通过抑制EGFR的活性,并与其形成胞内共价加成化合物,从而使酪氨酸激酶自磷酸化和下游信号受到不可逆的抑制^[37-39]。与第一代相比,第二

代阿法替尼可显著延长HNSCC患者的PFS,其与埃罗替尼PFS的中位数分别为2.6个月和1.9个月^[26]。阿法替尼可与EGFR在活性位点上形成共价键,导致通路受到不可逆的抑制,随后,由于EGFR的酪氨酸激酶二聚体内的自磷酸化减少,从而抑制下游信号转导^[40]。有研究^[41]表明,相比第一代可逆的EGFR-TKIs,第二代EGFR-TKIs可极大地降低EGFR、AKT和ERK1/2的磷酸化水平,能更有效地抑制HNSCC细胞的生长。因而在对HNSCC细胞生长的抑制作用上第二代EGFR-TKIs阿法替尼比第一代EGFR-TKIs吉非替尼和埃罗替尼更有效,同时第二代EGFR-TKIs对自噬的影响比第一代更强,第二代EGFR-TKIs不仅促进自噬起始信号,而且通过干扰溶酶体功能阻断自噬通量。阻断自噬的启动并不影响第二代EGFR-TKIs诱导的HNSCC生长抑制^[42]。

3.2.3 第三代TKIs 以奥西替尼(Osimertinib)为代表,它是一种具有全新结构的单苯胺嘧啶化合物^[43]。相较于第一代和第二代,奥西替尼是一种耐受性较好的TKIs^[33],其使鳞状细胞癌患者的PFS显著延长至18.9个月^[44]。还有研究^[45]显示,奥西替尼对经典EGFR致敏突变(如19号外显子缺失或L858R突变)和EGFR耐药T790M突变的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)均有显著疗效,且已被批准用于EGFR-TKIs治疗进展的EGFR T790M阳性NSCLC患者^[46],但在临床上其用于HNSCC的相关研究文献较少。CHAIB等^[47]研究表明,奥西莫替尼在体外具有抑制HNSCC细胞增殖的作用。

4 与EGFR靶向治疗相关的耐药机制

由于EGFR在HNSCC中的高表达,使以EGFR为靶点的治疗一度成为研究的热点。但随着靶向治疗普遍应用于临床,耐药现象随之出现。HNSCC细胞自主耐药机制主要包括EGFR的突变、下游相关基因的突变^[48]、上皮间充质转化和非自主耐药机制包括肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中细胞成分的分泌因子,如肿瘤相关成纤维细胞(carcinoma-associated fibroblasts, CAFs)等。

4.1 EGFR突变

EGFR含I和III两个胞外结构域,可与酪氨酸相结合,而肿瘤细胞对EGFR-TKIs的耐药性主要是由于与酪氨酸激酶结合的结构域发生了次级突变。JAIN等^[49]研究发现,在HNSCC中HRAS和MAP2K1点突变可引起EGFR-TKIs的耐药。HRAS的突变在HNSCC中最为普遍,约6%的肿瘤中可以观察到。HRAS通过降低RAS的GTPase活性,使RAS持续维持在GTP结合状态,持续激活信号通路的传导^[50]。

MAP2K1 活化在获得性 EGFR 抑制剂耐药中经常可以观察到, MAP2K1 过表达激活其下游靶点 MAPK1/3 和 c-Jun 磷酸化, 用第二代高度选择性 MAP2K1 抑制剂 PD-0325901 可以抑制对埃罗替尼耐药的 HNSCC 细胞 (SCC-R 细胞) 的生长^[49]。EGFR 的 T790M 点突变干扰了 TKIs 与 EGFR 激酶结构域之间的相互作用, 进而诱发 TKIs 对机体耐药性的产生^[51]。

第一代 EGFR-TKIs 的药物有效时间通常是短暂的, 几乎所有患者都会产生耐药性^[52]。在对第一代 EGFR-TKIs 耐药的患者中, 50%~60% 的患者在第 20 号外显子中出现 EGFR T790M 基因突变^[53]。以奥西替尼为代表的第三代 EGFR-TKIs 用于克服 T790M 突变介导的获得性耐药取得了显著疗效。但也有研究^[53]发现, L858R/T790M/L792H 突变细胞对奥西替尼具有耐药性。不过在联合使用西妥昔单抗后可以将 L792H 突变体的半数最大抑制浓度降低, 以克服其耐药性^[53]。HNSCC 中的西妥昔单抗耐药性是由 RTK 驱动的, 包括 HER3、MET 受体蛋白和 AXL 受体蛋白^[54]。RTK 的表达依赖于溴结构域^[55], 抑制溴结构域可以降低 RTK 的上调^[56]。有研究^[54]报道, 西妥昔单抗和溴结构域抑制剂联合治疗可显著延迟 HNSCC 患者的获得性耐药。研究^[57]发现, 西妥昔单抗治疗的 HNSCC 病例中有 40% 以上存在一种基于胞外受体域 EGFR-K₅₂₁ 单核苷酸的特异性耐药。

4.2 下游相关基因的突变

研究^[50]发现, 埃罗替尼耐药细胞中带有 MAP2K1 的 p.K57E 突变的变异肽, MAP2K1 及其下游靶点 MAPK1/3 和 c-Jun 在埃罗替尼耐药细胞中过表达和激活。而 MAP2K1 抑制剂导致 MAP2K1 及其下游靶点基因 MAPK1/3 磷酸化水平下降, 进而使细胞的表达得以回升, 耐药现象得到好转。

4.3 其他 RTKs 激活旁路信号通路

在与 EGFR 无关的情况下, 其他受体酪氨酸激酶的失调或下游化合物的异常激活均通过触发 PI3K 和 MAPK 信号轴, 对 EGFR 的抑制具有代偿性作用, 从而降低了 EGFR 抑制剂的疗效。EMT 是上皮细胞失去细胞极性和细胞黏附, 获得移动性和侵袭性, 形成间充质干细胞的过程, 它可能是 EGFR-TKIs 获得性耐药的原因之一, 在 HNSCC 侵袭中充当介质成分^[58-60]。EGFR 及其下游的通路通过调节细胞外基质, 可调节 EMT 和肿瘤侵袭, EMT 的激活也可能在预测 HNSCC 的预后发挥作用^[59,61]。同时有研究^[59,62]证实在 HNSCC 细胞中, EMT 过程可以激活携带 EGFR 突变体 (如 RAS 突变、HER2 扩增和 METD1228 V 突变) 的癌细胞中的 PI3K/AKT/mTORC 信号通路, 这些 EGFR 突变体对 EGFR-TKIs 具有耐药性。

4.4 肿瘤相关成纤维细胞

肿瘤相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAFs) 作为肿瘤微环境中最主要的组成成分之一, 能够分泌多种细胞因子, 从而促进肿瘤血管生成, 使微环境更有利于肿瘤生长。同时, CAFs 可通过分泌 EGF, 激活其下游信号通路, 进而促进癌细胞增殖^[63]。有研究^[64-65]提出在 HNSCC 患者体内, 肿瘤相关成纤维细胞的激活降低了肿瘤细胞对西妥昔单抗的敏感性, 而 CAFs 的存在增加了 UM-SCC-1 细胞 (人乳头瘤病毒阴性细胞) 对西妥昔单抗的耐药性。

5 预后

在包括 HNSCC 在内的许多上皮来源的癌症中 EGFR 表达量显著升高已经被证实^[66], 而且 EGFR 的表达水平与预后存在着相关性。许多研究^[59]认为 EGFR 具有负向的独立预后价值, 并指出如果肿瘤过表达 EGFR, 则治疗后继发的可能性更大, 生存率更低。在过去的几十年里, 运用 EGFR 在肿瘤细胞中过表达这一特性研制的抗肿瘤药物并未使 HNSCC 患者生存率得到明显改善, 许多患者有出现复发和转移性疾病。针对 HNSCC 的靶向治疗进展甚微, 复发或转移的 HNSCC 患者预后仍不佳, I 期或 II 期的 5 年总生存率为 70%, 局部进展期的 5 年总生存率为 54.7%^[67-68]。如何运用 EGFR 表达水平与预后的关联, 改善患者预后, 提高患者生存率成为急需攻破的难题。

6 结语与展望

自发现 EGFR 在 HNSCC 中表达水平增高以来, 基于对 EGFR 蛋白的分子结构及其下游信号通路研究获得大量的成果, 这极大地促进了靶向药物领域的进展。西妥昔单抗是已被 FDA 认证用于治疗 HNSCC 的抗 EGFR 靶向临床药物, 并已在临床上广泛应用。有多项临床前研究^[69-71]表明, 西妥昔单抗作为 EGFR 抑制剂联合放疗可以提高疗效, 但在 HNSCC 临床研究中发现, 除了西妥昔单抗外, 派姆单抗、zalutumumab 和 nimozutumab 等其他抗 EGFR 单克隆抗体的疗效仍未确定。小分子酪氨酸激酶抑制剂目前也作为抗 EGFR 的靶向药物应用于临床, 其中阿法替尼通过阻断下游信号通路的传导, 抑制 HNSCC 细胞的生长, 进而可有效改善患者 PFS^[72]。

然而, 在临床治疗中随着靶向药物的大规模应用, 患者对于药物的耐药反应也逐步增多。目前已有研究表明 EGFR 及其下游基因突变, 以及旁路通路的激活是 EGFR 靶向治疗产生耐药的主要原因, 充分

了解这些耐药机制,将有助于开发更有效的治疗方法。鉴于在HNSCC患者5年生存率较低,亟待深入研究与EGFR信号传导通路相关的反应机制,以避免耐药从而提高对患者的治疗效果。未来可将EGFR信号转导和EGFR靶向抑制剂耐药机制结合分析,深入研究mAbs和TKIs对EGFR信号转导特异性抑制的机制。

[参考文献]

- [1] ELKASHTY O A, ASHRY R, TRAN S D. Head and neck cancer management and cancer stem cells implication[J]. Saudi Dent J, 2019, 31(4): 395-416. DOI:10.1016/j.sdentj.2019.05.010.
- [2] VERMA J, DHINGRA V, SRIVASTAVA S, et al. Evaluation of epidermal growth factor receptor expression by a new scoring system in head-and-neck squamous cell carcinoma and its association with various pathological prognostic factors[J]. J Oral Maxillofac Pathol, 2018, 22(1): 11-17. DOI:10.4103/jomfp.JOMFP_137_16.
- [3] SOLOMON B, YOUNG R J, RISCHIN D. Head and neck squamous cell carcinoma: Genomics and emerging biomarkers for immunomodulatory cancer treatments[J]. Semin Cancer Biol, 2018, 52(Pt 2): 228-240. DOI:10.1016/j.semcancer.2018.01.008.
- [4] MICAILY I, JOHNSON J, ARGIRIS A. An update on angiogenesis targeting in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancers Head Neck, 2020, 5(1): 1-7. DOI:10.1186/s41199-020-00051-9.
- [5] LI W, CHEN Y, NIE X Q. Regulatory mechanisms of lncRNAs and their target gene signaling pathways in laryngeal squamous cell carcinoma [J/OL]. Front Pharmacol, 2020, 11: 1140[2020-11-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7397781/>. DOI: 10.3389/fphar.2020.01140.
- [6] STEWART E L, TAN S Z, LIU G, et al. Known and putative mechanisms of resistance to EGFR targeted therapies in NSCLC patients with EGFR mutations-a review[J]. Transl Lung Cancer Res, 2015, 4(1): 67-81. DOI:10.3978/j.issn.2218-6751.2014.11.06.
- [7] PARFENOV M, PEDAMALLU C S, GEHLENBORG N, et al. Characterization of HPV and host genome interactions in primary head and neck cancers[J]. PNAS, 2014, 111(43): 15544-15549. DOI:10.1073/pnas.1416074111.
- [8] CANCER GENOME ATLAS NETWORK. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas[J]. Nature, 2015, 517(7536): 576-582. DOI:10.1038/nature14129.
- [9] 宋晓晓, 林刃典. MGMT及表皮生长因子受体在喉鳞癌中的表达及对预后的影响[J]. 中国现代医生, 2018, 56(24): 60-63. DOI: CNKI:SUN:ZDYS.0.2018-24-018.
- [10] COSTA V, KOWALSKI L P, COUTINHO-CAMILLO C M, et al. EGFR amplification and expression in oral squamous cell carcinoma in young adults[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2018, 47(7): 817-823. DOI:10.1016/j.ijom.2018.01.002.
- [11] HOUSE R, MAJUMDER M, JANAKIRAMAN H, et al. Smoking-induced control of miR-133a-3p alters the expression of EGFR and HuR in HPV-infected oropharyngeal cancer[J/OL]. PLoS One, 2018, 13(10): e0205077[2020-11-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6173415/>. DOI:10.1371/journal.pone.0205077.
- [12] ZHENG Y, WANG Z, DING X, et al. Combined Erlotinib and PF-03084014 treatment contributes to synthetic lethality in head and neck squamous cell carcinoma[J/OL]. Cell Prolif, 2018, 51(3): e12424[2020-11-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6528911/>. DOI:10.1111/cpr.12424.
- [13] D'AMBROSIO S M, HAN C, PAN L, et al. Aliphatic acetogenin constituents of avocado fruits inhibit human oral cancer cell proliferation by targeting the EGFR/RAS/RAF/MEK/ERK1/2 pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 409(3): 465-469. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.05.027.
- [14] SHIMOMURA I, YOKOI A, KOHAMA I, et al. Drug library screen reveals benzimidazole derivatives as selective cytotoxic agents for KRAS-mutant lung cancer[J]. Cancer Lett, 2019, 451: 11-22. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.03.002.
- [15] MAZUMDAR T, SEN B, WANG Y, et al. Drug-induced RAF dimerization is independent of RAS mutation status and does not lead to universal MEK dependence for cell survival in head and neck cancers[J]. Anticancer Drugs, 2015, 26(8): 835-842. DOI: 10.1097/CAD.0000000000000251.
- [16] TASHIRO K, OIKAWA M, MIKI Y, et al. Immunohistochemical assessment of growth factor signaling molecules: MAPK, Akt, and STAT3 pathways in oral epithelial precursor lesions and squamous cell carcinoma[J]. Odontology, 2020, 108(1): 91-101. DOI:10.1007/s10266-019-00428-4.
- [17] TANG R, CHEN J, TANG M, et al. LncRNA SLCO4A1-AS1 predicts poor prognosis and promotes proliferation and metastasis via the EGFR/MAPK pathway in colorectal cancer[J]. Int J Biol Sci, 2019, 15(13): 2885-2896. DOI:10.7150/ijbs.38041.
- [18] PENG X, LIU Y, ZHU S, et al. Co-targeting PI3K/Akt and MAPK/ERK pathways leads to an enhanced antitumor effect on human hypopharyngeal squamous cell carcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2019, 145(12): 2921-2936. DOI:10.1007/s00432-019-03047-2.
- [19] LEE J Y, ENGELMAN J A, CANTLEY L C. BIOCHEMISTRY: PI3K charges ahead[J]. Science, 2007, 317(5835): 206-207. DOI: 10.1126/science.1146073.
- [20] JUNG K, KANG H, MEHRA R. Targeting phosphoinositide 3-kinase (PI3K) in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) [J]. Cancers Head Neck, 2018, 3: 3. DOI:10.1186/s41199-018-0030-z.
- [21] ALVARADO D, LIGON G F, LILLQUIST J S, et al. ErbB activation signatures as potential biomarkers for anti-ErbB3 treatment in HNSCC [J/OL]. PLoS One, 2017, 12(7): e0181356 [2020-12-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5517012/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0181356.
- [22] WU X, BHAYANI M K, DODGE C T, et al. Coordinated targeting of the EGFR signaling axis by microRNA-27a[J]. Oncotarget, 2013, 4(9): 1388-1398. DOI:10.18632/oncotarget.1239.
- [23] SWICK A D, PRABAKARAN P J, MILLER M C, et al. Cotargeting mTORC and EGFR signaling as a therapeutic strategy in HNSCC[J]. Mol Cancer Ther, 2017, 16(7): 1257-1268. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0115.
- [24] MAIRA S M, PECCHI S, HUANG A, et al. Identification and characterization of NVP-BKM120, an orally available Pan-class I PI3-kinase inhibitor[J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11(2): 317-328. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-11-0474.
- [25] 宋琦, 李晓明, 李彬, 等. EGFR单克隆抗体在复发/转移头颈鳞癌中应用的meta分析[J]. 中华医学杂志, 2015, 2(22): 1779-1783.

- DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2015.22.017.
- [26] GAZZAH A, BONI V, SORIA J C, et al. A phase 1b study of afatinib in combination with standard-dose cetuximab in patients with advanced solid tumours[J]. *Eur J Cancer*, 2018, 104: 1-8. DOI: 10.1016/j.ejca.2018.07.011.
- [27] TAHARA M, KIYOTA N, YOKOTA T, et al. Phase II trial of combination treatment with paclitaxel, carboplatin and cetuximab (PCE) as first-line treatment in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (CSPOR-HN₀₂) [J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(4): 1004-1009. DOI: 10.1093/annonc/mdy040.
- [28] NORONHA V, PATIL V M, JOSHI A, et al. Nimotuzumab-cisplatin-radiation versus cisplatin-radiation in HPV negative oropharyngeal cancer[J]. *Oncotarget*, 2020, 11(4): 399-408. DOI: 10.18632/oncotarget.27443.
- [29] MAZORRA Z, LAVASTIDA A, CONCHA-BENAVENTE F, et al. Nimotuzumab induces NK cell activation, cytotoxicity, dendritic cell maturation and expansion of EGFR-specific T cells in head and neck cancer patients[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 382. DOI: 10.3389/fphar.2017.00382.
- [30] LU Y, CHEN D G, LIANG J H, et al. Administration of nimotuzumab combined with cisplatin plus 5-fluorouracil as induction therapy improves treatment response and tolerance in patients with locally advanced nasopharyngeal carcinoma receiving concurrent radiochemotherapy: a multicenter randomized controlled study[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 1262. DOI: 10.1186/s12885-019-6459-6.
- [31] SOLASSOL I, PINGUET F, QUANTIN X. FDA- and EMA-approved tyrosine kinase inhibitors in advanced EGFR-mutated non-small cell lung cancer: safety, tolerability, plasma concentration monitoring, and management[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(11): 668. DOI:10.3390/biom9110668.
- [32] CHEN Z, ZHANG X, LI M, et al. Simultaneously targeting epidermal growth factor receptor tyrosine kinase and cyclooxygenase-2, an efficient approach to inhibition of squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(17): 5930-5939. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-03-0677.
- [33] HOQUE M, ELMAGHRABI Y A, KÖSE M, et al. Annexin A6 improves anti-migratory and anti-invasive properties of tyrosine kinase inhibitors in EGFR overexpressing human squamous epithelial cells[J]. *FEBS J*, 2020, 287(14): 2961-2978. DOI:10.1111/febs.15186.
- [34] KHAZNADAR S S, KHAN M, SCHMID E, et al. EGFR overexpression is not common in patients with head and neck cancer. Cell lines are not representative for the clinical situation in this indication[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(48): 28965-28975. DOI: 10.18632/oncotarget.25656.
- [35] RODRIGUEZ C P, ADELSTEIN D J, RYBICKI L A, et al. Single-arm phase II study of multiagent concurrent chemoradiotherapy and gefitinib in locoregionally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Head Neck*, 2012, 34(11): 1517-1523. DOI: 10.1002/hed.21971.
- [36] MARTINS R G, PARVATHANENI U, BAUMAN J E, et al. Cisplatin and radiotherapy with or without erlotinib in locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: a randomized phase II trial[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(11): 1415-1421. DOI:10.1200/JCO.2012.46.3299.
- [37] KEATING G M. Afatinib: a review of its use in the treatment of advanced non-small cell lung cancer[J]. *Drugs*, 2014, 74(2): 207-221. DOI:10.1007/s40265-013-0170-8.
- [38] SHARMA N, GRAZIANO S. Overview of the LUX-Lung clinical trial program of afatinib for non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 69: 143-151. DOI:10.1016/j.ctrv.2018.06.018.
- [39] YU C H, CHOU C C, TU H F, et al. Antibody-assisted target identification reveals afatinib, an EGFR covalent inhibitor, down-regulating ribonucleotide reductase[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(30): 21512-21529. DOI:10.18632/oncotarget.25177.
- [40] ABDALLAH S M B, HIRSH V. Irreversible tyrosine kinase inhibition of epidermal growth factor receptor with afatinib in EGFR activating mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer[J]. *Curr Oncol*, 2018, 25(11): 9-17. DOI:10.3747/co.25.3732.
- [41] NAKAMURA Y, TOGASHI Y, NAKAHARA H, et al. Afatinib against esophageal or head-and-neck squamous cell carcinoma: significance of activating oncogenic HER4 mutations in HNSCC [J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(8): 1988-1997. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-15-0737.
- [42] CAI J Y, SUN M, GE X, et al. EGFR tyrosine kinase inhibitors differentially affect autophagy in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 486(4): 1027-1033. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.03.157.
- [43] JIANG T, ZHOU C. Clinical activity of the mutant-selective EGFR inhibitor AZD9291 in patients with EGFR inhibitor-resistant non-small cell lung cancer[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2014, 3(6): 370-372. DOI:10.3978/j.issn.2218-6751.2014.08.02.
- [44] SORIA J C, OHE Y, VANSTEENKISTE J, et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2): 113-125. DOI:10.1056/NEJMoa1713137.
- [45] LE X N, PURI S, NEGRAO M V, et al. Landscape of EGFR-dependent and-independent resistance mechanisms to osimertinib and continuation therapy beyond progression in EGFR-mutant NSCLC[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(24): 6195-6203. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-18-1542.
- [46] 王小艳, 汪睿, 姚圆圆, 等. 奥希替尼联合厄洛替尼治疗 EGFR-T790M 与 C797S 反式突变的肺腺癌一例并文献复习[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(8): 951-953. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2020.08.017
- [47] CHAIB I, CAI X T, LLIGE D, et al. Osimertinib and dihydroartemisinin: a novel drug combination targeting head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(22): 651. DOI:10.21037/atm.2019.10.80.
- [48] LIU Q, YU S, ZHAO W, et al. EGFR-TKIs resistance via EGFR-independent signaling pathways[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 53. DOI:10.1186/s12943-018-0793-1.
- [49] JAIN A P, PATEL K, PINTO S, et al. MAP2K1 is a potential therapeutic target in erlotinib resistant head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 18793. DOI: 10.1038/s41598-019-55208-5.
- [50] RUICCI K M, PINTO N, KHAN M I, et al. ERK-TSC₂ signalling in constitutively-active HRAS mutant HNSCC cells promotes resistance to PI3K inhibition[J]. *Oral Oncol*, 2018, 84: 95-103. DOI:

- 10.1016/j.oraloncology.2018.07.010.
- [51] WANG S, TSUI S T, LIU C, et al. EGFR C797S mutation mediates resistance to third-generation inhibitors in T790M-positive non-small cell lung cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1): 59. DOI: 10.1186/s13045-016-0290-1.
- [52] KLAPPROTH E, DICKREUTER E, ZAKRZEWSKI F, et al. Whole exome sequencing identifies mTOR and KEAP1 as potential targets for radiosensitization of HNSCC cells refractory to EGFR and $\beta 1$ integrin inhibition[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(26): 18099-18114. DOI:10.18632/oncotarget.24266.
- [53] ZHANG Q, ZHANG X C, YANG J J, et al. EGFR L792H and G796R: two novel mutations mediating resistance to the third-generation EGFR tyrosine kinase inhibitor osimertinib[J]. *J Thorac Oncol*, 2018, 13(9): 1415-1421. DOI:10.1016/j.jtho.2018.05.024.
- [54] LEONARD B, BRAND T M, O'KEEFE R A, et al. BET inhibition overcomes receptor tyrosine kinase-mediated cetuximab resistance in HNSCC[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(15): 4331-4343. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-0459.
- [55] STUHLMILLER T J, MILLER S M, ZAWISTOWSKI J S, et al. Inhibition of lapatinib-induced kinome reprogramming in ERBB₂-positive breast cancer by targeting BET family bromodomains[J]. *Cell Rep*, 2015, 11(3): 390-404. DOI:10.1016/j.celrep.2015.03.037.
- [56] STRATIKOPOULOS E E, DENDY M, SZABOLCS M, et al. Kinase and BET inhibitors together clamp inhibition of PI3K signaling and overcome resistance to therapy[J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(6): 837-851. DOI:10.1016/j.ccell.2015.05.006.
- [57] BRAIG F, KRIEGS M, VOIGTLAENDER M, et al. Cetuximab resistance in head and neck cancer is mediated by EGFR-K521 polymorphism[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(5): 1188-1199. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-16-0754.
- [58] SHIBAHARA D, FURUGEN M, KASASHIMA S, et al. Radiation-induced sarcoma in a 10-year survivor with stage IV EGFR-mutated lung adenocarcinoma[J/OL]. *Respir Med Case Rep*, 2019, 28: 100889 [23020-11-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6604042/>. DOI:10.1016/j.rmcr.2019.100889.
- [59] YOKOKAWA M, MORITA K I, OIKAWA Y, et al. Co-expression of EGFR and MET has a synergistic effect on the prognosis of patients with oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2020, 49(3): 235-242. DOI:10.1111/jop.12977.
- [60] JIANG Z S, SUN Y Z, WANG S M, et al. Epithelial-mesenchymal transition: potential regulator of ABC transporters in tumor progression [J]. *J Cancer*, 2017, 8(12): 2319-2327. DOI:10.7150/jca.19079.
- [61] VSIANSKY V, GUMULEC J, RAUDENSKA M, et al. Prognostic role of c-Met in head and neck squamous cell cancer tissues: a meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 10370. DOI:10.1038/s41598-018-28672-8.
- [62] LIN C Z, REN Z H, YANG X, et al. Nerve growth factor (NGF)-TrkA axis in head and neck squamous cell carcinoma triggers EMT and confers resistance to the EGFR inhibitor erlotinib[J]. *Cancer Lett*, 2020, 472: 81-96. DOI:10.1016/j.canlet.2019.12.015.
- [63] SUN Y, FAN X, ZHANG Q, et al. Cancer-associated fibroblasts secrete FGF-1 to promote ovarian proliferation, migration, and invasion through the activation of FGF-1/FGFR4 signaling[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 1010428317712592. DOI: 10.1177/1010428317712592.
- [64] YEGODAYEV K M, NOVOPLANSKY O, GOLDEN A, et al. TGF-beta-activated cancer-associated fibroblasts limit cetuximab efficacy in preclinical models of head and neck cancer[J]. *Cancers*, 2020, 12(2): 339. DOI:10.3390/cancers12020339.
- [65] AYUSO J M, VITEK R, SWICK A D, et al. Effects of culture method on response to EGFR therapy in head and neck squamous cell carcinoma cells[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12480. DOI:10.1038/s41598-019-48764-3.
- [66] DRIEHUIS E, SPELIER S, BELTRÁN HERNÁNDEZ I, et al. Patient-derived head and neck cancer organoids recapitulate EGFR expression levels of respective tissues and are responsive to EGFR-targeted photodynamic therapy[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(11): 1880. DOI:10.3390/jcm8111880.
- [67] BOECKX C, BAAY M, WOUTERS A, et al. Anti-epidermal growth factor receptor therapy in head and neck squamous cell carcinoma: focus on potential molecular mechanisms of drug resistance[J]. *Oncologist*, 2013, 18(7): 850-864. DOI: 10.1634/theoncologist.2013-0013.
- [68] LURYI A L, CHEN M M, MEHRA S, et al. Treatment factors associated with survival in early-stage oral cavity cancer: analysis of 6830 cases from the national cancer data base[J]. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 2015, 141(7): 593-598. DOI:10.1001/jamaoto.2015.0719.
- [69] HENNEQUIN C, GUILLERM S, QUERO L. Combination of chemotherapy and radiotherapy: a thirty years evolution[J]. *Cancer Radiother*, 2019, 23(6/7): 662-665. DOI:10.1016/j.canrad.2019.07.157.
- [70] TABERNA M, OLIVA M, MESÍA R. Cetuximab-containing combinations in locally advanced and recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 383. DOI:10.3389/fonc.2019.00383.
- [71] SANTURAY R T, JOHNSON D E, GRANDIS J R. New therapies in head and neck cancer[J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(5): 385-396. DOI:10.1016/j.trecan.2018.03.006.
- [72] MACHIELS J P H, HADDAD R I, FAYETTE J, et al. Afatinib versus methotrexate as second-line treatment in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck progressing on or after platinum-based therapy (LUX-Head & Neck 1): an open-label, randomised phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(5): 583-594. DOI:10.1016/S1470-2045(15)70124-5.

[收稿日期] 2021-02-15

[修回日期] 2021-05-12

[本文编辑] 阮芳铭