

结直肠癌抗 EGFR 单克隆抗体疗效预测靶标的研究进展

210002 南京 解放军八一医院全军肿瘤中心肿瘤内科 寻琛, 王琳¹ 综述

【摘要】 分子靶向治疗成为结直肠癌治疗的新突破,其中包括抗表皮生长因子受体(EGFR)单克隆抗体。如何寻找使用抗 EGFR 单抗的优势人群,从而避免不必要的毒副作用和无效治疗是目前研究的热点。本文就目前国内外研究较多的预测抗 EGFR 单抗疗效的生物靶标作一综述。

【关键词】 分子靶向治疗; 抗 EGFR 单抗; 生物靶标

中图分类号:R735.3 文献标识码:A 文章编号:1009-0460(2010)05-0457-04

Promising future biomarkers for anti-EGFR monoclonal antibody in colorectal cancer

XUN Chen, WANG lin. Department of Oncology, Cancer Center of PLA, 81 Hospital of PLA, Nanjing 210002, China

Corresponding author: WANG lin, E-mail: wanglin81yy@163.com

【Abstract】 Molecular targeted therapy has been a promising treatment for colorectal cancer today, which includes anti-EGFR (epithelial growth factor receptor) monoclonal antibody. How to select beneficial patients for this therapy, so as to avoid unnecessary toxicity and invalid expense, is a hotspot of research. The object of the review is to introduce some biomarkers which may predict efficacy of the anti-EGFR monoclonal antibody therapy.

【Key Words】 Molecular targeted therapy; Anti-EGFR monoclonal antibody; Biomarker

建立在分子生物学基础上的靶向治疗已经成为结直肠癌治疗的新标准。抗表皮生长因子受体(EGFR)单克隆抗体(如西妥昔单抗、帕尼单抗等)是目前结直肠癌分子靶向治疗的主要药物之一。2004 年, Cunningham^[1] 经过 BOND 试验发现,在伊立替康治疗失败后的转移性结直肠癌(mCRC)患者中使用伊立替康联合西妥昔单抗能较单用伊立替康延长 2.6 个月的中位 PFS,从而批准了西妥昔单抗在结直肠癌的应用。

EGFR 即表皮生长因子受体,为具有酪氨酸激酶活性的 170kDa 的跨膜糖蛋白。其结构可分为胞外配体结合区、跨膜疏水区 and 胞内酪氨酸激酶酸区。其配体主要有 EGF、TCF- α 、双调节蛋白(Amphiregulin)、表皮素(Epiregulin)、Betacellulin、肝素结合性表皮生长因子(heparin-binding EGF, HBEGF)和神经调节素 2- α (NRG2- α)。EGFR 与配体结合后即形成同源二聚体或与 EGFR 家族的其他成员形成异源二聚体,进而通过胞内激酶区域的自身磷酸化激活,将信号传到胞内乃至核内。其重要的下游通路有 Ras-Raf-MAPK 通路,引起细胞的增殖、转化和迁移等;另外一条重要通路是 PTEN-PI3K-AKT 通路,主要影响细胞的生存、凋亡、侵袭和迁

移等。此外,应激活蛋白激酶通路包括 PKC、JAK/STAT 也参与了 EGFR 的信号传导。这些通路最终将信号传递到细胞核内引起包括细胞分裂、增殖、生存、凋亡、迁移、侵袭及粘附等一系列生物反应。

如何寻找使用抗 EGFR 单抗的优势人群,从而避免不必要的毒副作用和无效治疗是目前研究的热点。众多学者就 EGFR 相关的下游信号通道及其配体等生物靶标与抗 EGFR 单抗疗效的相关性展开了从理论到临床的广泛研究。

1 K-ras 基因

K-ras 基因是 Ras 癌基因家族中的一员,Ras 基因参与细胞生长和分化的调控,并参与多种肿瘤的形成与发展。其与人类肿瘤相关的特征性基因包括三种,即 H-ras、K-ras 和 N-ras,它们分别定位于 11、12 和 1 号染色体。其中 K-ras 基因是表皮生长因子受体(EGFR)信号通路中的重要分子之一,编码 21kD(p21)蛋白。突变型 K-ras 基因不受上游 EGFR 基因状态的影响,始终处于激活状态,只有野生型 K-ras 基因受上游 EGFR 信号刺激的影响。这就是具有突变 K-ras 基因患者对抗 EGFR 药物治疗无效的理论基础。这一理论已经在

1 通讯作者, E-mail: wanglin81yy@163.com

具有 K-ras 基因突变的肿瘤患者上得到了证实^[2]。2008 年, CRYSTAL 试验也证实^[3]: 西妥昔单抗联合 FOLFIRI 组在 K-ras 野生型转移性结直肠癌患者中的治疗反应率比单用 FOLFIRI 组提高了近 1 倍, 进展风险降低了 32%, 中位 OS 延长了 3.9 个月; 而 K-ras 突变型患者不能从抗 EGFR 单抗中获益。同年报道的 OPUS 试验^[4]、NCIC CO. 17 试验^[5] 等同样证实了 K-ras 基因对抗 EGFR 单抗疗效的预测性。2008 年 10 月, K-ras 基因检测被写入 2008 年第 3 版《美国国立癌症综合网络 (NCCN) 结直肠癌临床实践指南》。K-ras 基因与帕尼单抗疗效也显示出一定的关系。美国加利福尼亚 Amado 等的一项 III 期随机对照试验发现^[6], 帕尼单抗 + BSC 组中, 野生型 K-ras 和突变型 K-ras 的中位 PFS 分别为 12.3 周和 7.4 周 (BSC 组则均为 7.3 周), 有效率分别为 17% 和 0, 疾病稳定率分别为 34% 和 12%。联合分析时, 野生型 K-ras 者总生存期也长于突变型 K-ras 者。Peeters 等^[7] 对 363 例 (帕尼单抗 + BSC 组 188 例, BSC 组 175 例) 患者进行 PRO (患者自诉临床转归) 分析, 同样得出野生型 K-ras 相比突变型 K-ras 患者有更长的 PFS 的结论。

2 B-RAF 基因

B-RAF 是一种癌基因, 它编码一种丝/苏氨酸特异性激酶, 是 RAS/RAF/MEK/ERK/MAPK 通路重要的转导因子, 参与调控细胞内多种生物学事件, 如细胞生长、分化和凋亡等。B-RAF 突变状态与多种肿瘤的发生、发展及临床结局有关。大约 80% ~ 90% 的 B-RAF 基因突变发生在 exon15 的 1799 核苷酸上, T 突变为 A, 导致其编码的谷氨酸由缬氨酸取代 (V600E)。目前认为, V600E 突变可模拟 T599 和 S602 两个位点的磷酸化过程, 从而使 B-RAF 蛋白异常激活。约 3% ~ 5% 的结直肠癌患者具有 B-RAF 基因突变, 而且有趣的是 RAS 和 RAF 基因突变具有相互排斥性。如果肿瘤具有 RAS 基因的突变, 那么就不会同时具有 RAF 基因的突变, 反之亦然^[8]。在一项以前接受过西妥昔单抗或者是帕尼单抗治疗的 113 患者的回顾性研究发现^[9]: 30% 的患者具有 K-ras 基因突变, 10% 有 B-RAF 基因突变; 有 B-RAF 基因突变的患者对用 EGFR 单抗无效; 在既没有 K-ras 突变也没有 B-RAF 基因突变的患者中抗 EGFR 单抗的反应率为 32%; 与那些 B-RAF 基因突变的患者相比, 抗 EGFR 单抗可以明显延长 K-ras 和 B-RAF 均为野生型患者的 PFS 和 OS。Lambrechts 等^[10] 在 2009 年 ASCO 年会上报告了 276 例化疗失败后接受西妥昔单抗 ± 伊立替康治疗患者中结直肠癌组织中 K-ras、B-RAF、N-ras 的表达并分析了其与 OS、PFS 的相关性。结果显示: K-ras 突变发生率为 42%, 野生型与更佳的 OR、更长 PFS 和 OS 相关 ($P < 0.001$); 9.8% K-ras 野生型患者合并 B-RAF 突变, 5% K-ras 野生型合并 N-ras 突变; B-RAF 野生型疗效更佳 ($P \leq 0.01$); K-ras、B-RAF、N-ras 突变是互相排斥的; K-ras、B-RAF、N-ras 均为野生型的患者具有更好的 OR、PFS 和 OS ($P < 0.0001$)。而 Kohne 等^[3] 报告的 CRYSTAL 研

究中未能验证 BRAF 预测疗效的作用。在 K-ras 野生型/B-RAF 野生型患者中, 西妥昔单抗联合伊立替康组与单药伊立替康组无论 PFS 或 OS 均无显著性差异。BRAF 突变是结直肠癌患者的预后因素, 但不能预测西妥昔单抗疗效。总的说来, 目前多数研究仍然倾向 B-RAF 突变状态对抗 EGFR 单抗疗效有一定的预测作用。

3 K-ras/BRAF/PI3K 信号网络

PI3K (磷脂酰肌醇 β -3 激酶) 是 PI3K-AKT 通路的重要组成部分, 能促进肿瘤细胞的生长及侵袭^[11]。它的激活靠酪氨酸激酶受体在细胞表面的聚集以及激活的 Ras 通路。它与 K-ras 和 B-RAF 三者形成信号转导网络, 它们编译的蛋白在细胞内信号网络中相互影响。在这个信号网络里, K-RAS 蛋白不仅与 RAF 家族的蛋白激酶有关, 如 BRAF, 同样与 PI3K 和为 ATP 酶 RAL 交换因子的家族有关^[12]。Barault 和 coworkers 认为在这个信号网络中众多的成员中, 一个或更多基因的突变即能导致整个网络的激活。另一方面, 破坏其中某一成员可能使得信号转导从这个网络中剩余的通路进行^[13]。在一个基于人口学的研究中, Barault 等检测了 586 例结肠腺癌, 在这三个基因中至少一个基因突变而使整个网络的激活的病例占总病例数的 56.4%, 其中 K-ras 突变者占 34.4%, PIK3CA 突变者占 17.8%, BRAF 突变者占 13.3%, K-ras 和 PIK3CA 同时突变的有 8.2%, B-RAF 和 PIK3CA 同时突变的有 2.2%, K-ras 和 B-RAF 同时突变的有 0.2%。在一个多变量分析中, 信号网络的激活与更高的死亡风险相关^[13]。

4 PTEN 基因的表达

其他激活的下游信号传导通路同样可以作为预测抗 EGFR 单抗疗效的靶标。第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物基因 (phosphatase and tension homolog deleted on chromosome ten, PTEN) 是一种内源性的抑癌基因, 它可以抑制能使细胞存活增多的下游信号通路。PTEN 的活性减低与 AKT (即蛋白激酶 B, PKB) 的激活增多相关, 而 AKT 可以导致细胞的持续存活。在结肠癌中 PTEN 很少发生突变, 但是 PTEN 的高度甲基化可以导致其表达减少^[14]。与 K-ras 基因在原发灶和转移灶的突变状态达到 95% 的一致性^[15] 不同, PTEN 在原发性灶中的表达并不意味着在转移灶中一定表达。2008 年的 ASCO 年会上 Loupakis 等^[16] 提出了在转移性肝癌中 PTEN 的表达可以作为 EGFR 单抗疗效的生物靶标, 因为相对于转移灶中高 PTEN 表达的患者, EGFR 单抗的疗效在低 PTEN 表达 (这种低表达同样也意味着增多细胞存活) 的患者中较差。2009 年 Fotios 等^[17] 将 102 例伊立替康无效的 mCRC 患者用伊立替康加西妥昔单抗治疗, 同时用 IHC (免疫组化) 检测 PTEN, IHC 检测 pAKT 及 K-ras 突变状态。发现: (1) PTEN、pAKT 和 K-ras 在原发灶和转移灶中的一致性分别为 60%、68% 和 95%。(2) 36% 的 PTEN 阳性

mCRC 患者对治疗应答,阴性者仅 5% 产生应答;阳性患者中位 PFS 4.7 个月,而阴性者中位 PFS 为 3.3 个月,两组数据差异均具有统计学意义。(3) PTEN 阳性并 K-ras 野生型的患者得到更长的 PFS^[17] (5.5 个月 *vs* 3.8 个月; HR = 0.42; $P = 0.001$)。但是,由于 PTEN 表达检测值一般是通过免疫组化法测定的,然而免疫组化法通常受到质疑,所以只有不同实验室检测结果的可重复性得到证实才能使这种检测方法得到公认。由于存在这样的问题,推荐使用突变状态来作为药物疗效的生物靶标是因为突变状态结果在不同实验室常可以得到很好的可重复性。

5 EGFR 配体

Khambata-Ford 等^[18] 第一个提出高表达 EGFR 配体(如 epiregulin/EREG 表皮调节素和 amphiregulin/AREG 双调蛋白)的患者可以在西妥昔单抗治疗中获益。2008 年的 ASCO 年会上 Baker 等^[2] 的研究支持了这些发现并进一步细分了可以从 EGFR 单抗治疗中获益的人群。2009 ASCO 年会上 Jonker 等^[19] 进一步证实 Epiregulin (EREG) 表达 + K-ras 状态可以作为西妥昔单抗疗效的联合靶标。385 例对化疗耐药的进展期 CRC 患者接受西妥昔单抗治疗或最佳支持治疗,其中 36% 为 K-ras 野生型并 EREG 高表达; K-ras 野生型同时 EREG 高表达的患者,在西妥昔单抗组和安慰剂组的中位 PFS 分别为 5.4 个月和 1.9 个月 (HR:0.31; $P < 0.0001$),中位 OS 为 9.8 和 5.1 个月^[19] (HR:0.43; $P < 0.001$)。其他一些基因还需要得到更多的研究证实。

一些潜在的可以预测 EGFR 单抗治疗效果的生物靶标还包括上皮细胞向间质细胞的转变(epithelial to mesenchymal transition, EMT),肿瘤细胞在这个过程中逐渐失去了表皮细胞具有的标记的同时出现了具有间质细胞特性的标记增加^[20]。EMT 转变特异地与增殖减少及转移、侵袭增加之间相关联。可是现如今 EMT 作为预测靶标还停留在假说阶段,仅仅在一些临床前的实验模型中得到证实^[21]。

另外,尽管 EGFR 的突变检测在非小细胞肺癌的疗效预测上已经成为典范,但是由于 EGFR 突变很少发生在结直肠癌中,所以 EGFR 突变的检测并不适用于转移性结直肠癌。尽管一些研究提出 EGFR 的扩增可成为对基于抗 EGFR 靶向治疗有效性的预测靶标^[22],但各实验室关于高表达和低表达的判断目前还没有统一的量化标准。

综上所述:(1) K-ras 基因突变状态是目前预测抗 EGFR 单抗疗效的最明确的生物标记,其应用已进入日常临床阶段。(2) B-RAF 基因突变状态可能与抗 EGFR 单抗疗效相关,且与 K-ras 基因突变相互排斥。(3) K-ras/BRAF/PI3K 形成信号网络,一个或更多基因的突变即可能导致整个网络的激活,从而导致对抗 EGFR 单抗治疗的耐药。(4) 下游信号 PTEN 的高表达可能与抗 EGFR 单抗治疗患者更长的 PFS 相关,但其检测方法的可重复性需要得到证实。(5) EGFR 配体如 EREG、AREG 的表达水平与西妥昔单抗疗效有显著

性相关性。(6) EMT 对作为预测靶标尚处于临床前研究过程中。(7) EGFR 突变状态对疗效的预测不适用于 mCRC;而 EGFR 扩增作为预测靶标,其量化标准有待统一。

总之,随着抗 EGFR 单抗在临床上越来越深入的观察与应用,寻找到预测其治疗疗效的生物靶标已成为目前研究的热点。用生物靶标来选择合适的患者进行靶向治疗,或许能够改善生存、避免不必要的毒性并减少无效治疗。将疗效预测指标纳入临床试验以筛选更可能有效的患者,将有助于明确抗 EGFR 单抗一线治疗的适应症。另外,与传统方法相比,通过这种方法能更快地确定抗 EGFR 单抗用于其他类型肿瘤的适应症。这些都将为抗 EGFR 单抗靶向治疗的合理应用奠定坚实基础。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Baker JB, Dutta D, Watson D, et al. Evaluation of tumor gene expression and K-Ras mutations in FFPE tumor tissue as predictors of response to cetuximab in metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26: a3512.
- [3] Kohne C, Stroiakovski D, Chang C, et al. Predictive biomarkers to improve treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC): Outcomes with cetuximab plus FOLFIRI in the CRYSTAL trial[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(15 Suppl): a4068.
- [4] Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT, et al. KRAS status and efficacy of first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer(mCRC) with FOLFOX with or without cetuximab: The OPUS experience[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(Suppl): a4000.
- [5] Christos S, Karapetis S, Khambata F, et al. K-ras Mutations and Benefit from Cetuximab in Advanced Colorectal Cancer[J]. *N Engl J Med*, 2008, 23, 359(17): 1757-1765.
- [6] Amado RG, Wolf M, Petters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer[J]. 2008, 26(10): 1626-1634.
- [7] Peeters M, Siena S, van Cutsem E, et al. Association of progression-free survival, overall survival, and patient-reported outcomes by skin toxicity and KRAS status in patients receiving panitumumab monotherapy[J]. *Cancer*, 2009, 115(7): 1544-1554.
- [8] Envenuti S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F. Oncogenic activation of the RAS/RAF signaling pathway impairs the response of metastatic colorectal cancers to antiepidermal growth factor receptor antibody therapies [J]. *Cancer Res*, 2007, 67: 2643-2648.
- [9] 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: 5705-5712.
- [10] Lambrechts D, De Roock W, Prenen H, et al. The role of

- KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations as markers of resistance to cetuximab in chemorefractory metastatic colorectal cancer[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(15 Suppl):a4020.
- [11] Samuels Y, Diaz LA Jr, Schmidt-Kittler O, et al. Mutant PIK3CA promotes cell growth and invasion of human cancer cells [J]. Cancer Cell, 2005, 7;561 – 573.
- [12] Mor A, Philips MR. Compartmentalized Ras/MAPK signalling [J]. Ann Rev Immunol, 2006, 24;771 – 800.
- [13] Barault L, Veyrie N, Jooste V, et al. Mutations in the RAS-MAPK, PI(3)K (phosphatidylinositol-3-OH kinase) signaling network correlate with poor survival in a population-based series of colon cancers[J]. Int J Cancer, 2008, 122;2255 – 2259.
- [14] Jhawer M, Goel S, Wilson AJ, et al. PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab [J]. Cancer Res, 2008, 68;1953 – 1961.
- [15] Santini D, Loupakis F, Vincenzi B, et al. High concordance of Kras status between primary colorectal tumors and related metastatic sites: Implications for clinical practice [J]. Oncologist, 2008, 13;1270 – 1275.
- [16] Loupakis F, Pollina L, Stasi I, et al. Evaluation of PTEN expression in colorectal cancer (CRC) metastases (mets) and in primary tumors as predictors of activity of cetuximab plus irinotecan treatment [J]. J Clin Oncol, 2008, 26; a4003.
- [17] Fotios L, Luca P, Irene S, et al. PTEN Expression and KRAS mutations on primary tumors and metastases in the prediction of benefit from cetuximab plus irinotecan for patients with metastatic colorectal cancer [J]. Journal of Clinical Oncology, 2009, 27, 16; 2622 – 2629.
- [18] Khambata-Ford S, Garrett CR, Meropol NJ, et al. Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal patients with cancer treated with cetuximab [J]. J Clin Oncol, 2007, 25; 3230 – 3237.
- [19] Jonker DJ, Karapetis C, Harbison C, et al. High epiregulin (EREG) gene expression plus K-ras wild-type (WT) status as predictors of cetuximab benefit in the treatment of advanced colorectal cancer (ACRC): Results from NCIC CTG CO. 17-A phase III trial of cetuximab versus best supportive care (BSC) [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(15 Suppl):a4016.
- [20] Yang AD, Fan F, Camp ER, et al. Chronic oxaliplatin resistance induces epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer cell lines [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12; 4147 – 4153.
- [21] Yauch RL, Januario T, Eberhard DA, et al. Epithelial compared with mesenchymal phenotype determines in vitro sensitivity and predicts clinical activity of erlotinib in lung patients with cancer [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11; 8686 – 8698.
- [22] Cappuzzo F, Varella-Garcia M, Finocchiaro G, et al. Primary resistance to cetuximab therapy in EGFR FISH positive colorectal cancer patients [J]. Brit J Cancer, 2008, 99; 83 – 89.

收稿日期:2009-11-04; 修回日期:2009-12-15