

## • 综述 •

# 表皮生长因子受体Ⅲ型突变体靶向治疗乳腺肿瘤的研究进展

李雨弥 徐卫云

以表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)为靶点的抗肿瘤研究已取得了令人瞩目的进展,但其存在于人正常组织,特异性较差。现已知 EGFR 存在多种突变体,其中最常见的是表皮生长因子受体Ⅲ型突变体(epidermal growth factor receptor type Ⅲ variant, EGFRvⅢ)。EGFRvⅢ在 50%~78%的乳腺癌中有表达<sup>[1]</sup>。最近一项实验数据显示,在导管原位癌、浸润性乳腺癌和有癌转移的患者,腋窝淋巴结 EGFRvⅢ表达率分别为 29%、40%和 54%,其中 ErbB-2 阳性乳腺癌患者腋窝淋巴结的 EGFRvⅢ表达率为 75%<sup>[2]</sup>,而正常乳腺组织和良性乳腺肿瘤中检测不到 EGFRvⅢ蛋白或 EGFRvⅢ mRNA。这些特征使 EGFRvⅢ可能成为较 EGFR 更特异的乳腺肿瘤治疗靶标。本文将对 EGFRvⅢ靶向治疗乳腺肿瘤的研究进展作一综述。

## 1 EGFRvⅢ 的结构与功能

EGFRvⅢ是 EGFR 的胞外区框内缺失突变,其胞外部分的 2~7 外显子被删除,使外显子 1 和 8 相连接,并在该结合位点产生一个新的甘氨酸<sup>[3]</sup>。丧失了胞外配体结合区的 EGFRvⅢ同样可以激活酪氨酸激酶,产生自体磷酸化,诱发下游信号传导途径,引起级联反应,影响肿瘤细胞的生物学行为。其机制主要包括以下 4 个方面:(1)EGFRvⅢ通过促进肿瘤细胞增殖,抑制凋亡,提高乳腺肿瘤细胞致瘤性。表达 EGFRvⅢ的人乳腺癌细胞株 MCF-7 具有诱导裸鼠细胞增殖并增强细胞的致瘤性<sup>[4]</sup>。(2)EGFRvⅢ具有促使细胞增殖、提高细胞活力、使其更具侵袭性和促进血管生成的能力<sup>[5]</sup>。研究发现 EGFRvⅢ能直接作用于富含亮氨酸重复序列和免疫球蛋白样多肽 1(leucine rich repeats and immunoglobulin-like domains 1, LRIG1)基因,使 LRIG1 基因沉默,肿瘤细胞更具有活力、自主性和侵袭性<sup>[6]</sup>。(3)EGFRvⅢ还可介导细胞保护作用,即抗辐射作用<sup>[7]</sup>。同时 EGFRvⅢ还有助于癌细胞在肿瘤微环境的应激抵抗,使其更具有生长和生存优势<sup>[8]</sup>。(4)EGFRvⅢ与肿瘤的预后也有一定关系。实验发现 EGFRvⅢ可诱导乳腺癌对他莫昔芬耐药,其机制还不明确<sup>[9]</sup>,但这种现象使以他莫昔芬为内分泌治疗的患者疗效降低。

作者单位:646000 四川 泸州,泸州医学院附属医院普外科(李雨弥);621000,四川 绵阳,绵阳市中心医院乳腺外科(徐卫云)

通信作者:徐卫云, E-mail: myxuweiyun@163.com

## 2 以 EGFRvⅢ 为靶点的抗乳腺肿瘤研究

### 2.1 EGFRvⅢ 特异性核酶

Luo 等<sup>[10]</sup>设计出针对 EGFRvⅢ 的特异性核酶,在裸鼠模型上能特异性裂解乳腺癌细胞中 EGFRvⅢ mRNA。乳腺癌细胞表达的这种 EGFRvⅢ 核酶,可通过 mRNA 和蛋白质水平下调内源性 EGFRvⅢ 表达,从而抑制细胞增殖。虽然上述研究成果令人振奋,但是如何有效地将特异性核酶送到靶细胞是目前需要攻克的问题。

### 2.2 EGFRvⅢ 下游信号传导抑制剂

目前已知,可通过抑制 EGFRvⅢ 下游信号传导分子的活性从而阻断下游信号传导通路,如 CI-1033 通过 EGFRvⅢ 下游信号通路 Ras/MAP 激酶和 PI-3/AKT 途径能有效抑制乳腺癌小鼠移植模型的发生<sup>[11]</sup>。但目前酪氨酸激酶抑制剂对乳腺癌患者的治疗效果不一,可能与磷酸化残基 Y1045 表达降低导致 EGFRvⅢ 下调缺陷有关。Cbl 蛋白连接酶家族是蛋白酪氨酸激酶信号通路的负调控因素,而该作用依赖于 EGFR 的酪氨酸残基 Y1045 的磷酸化。由此推断 EGFRvⅢ 的酪氨酸残基 Y1045 磷酸化降低很可能是 EGFRvⅢ 摆脱 Cbl 蛋白诱导降解的原因<sup>[12]</sup>。

### 2.3 针对 EGFRvⅢ 的肿瘤疫苗

树突状细胞(dendritic cell, DC)能刺激并致敏初始型 T 细胞启动早期免疫反应,在体内外激发 T 细胞增殖,诱导特异性细胞毒 T 淋巴细胞生成。有学者用乳腺癌患者外周血来源的 DC 与乳腺癌细胞株 MCF-7 融合,发现该融合细胞能引起自身 T 细胞增殖并以主要组织相容性复合体 I (major histocompatibility complex I, MHC-I)的限制方式杀伤 51Cr 标记的自体肿瘤细胞,而单纯肿瘤细胞、DC 或 DC 与肿瘤细胞混合物均不能诱导 T 细胞增殖,提示 DC 肿瘤细胞融合瘤苗的抗肿瘤免疫活性具有潜在的应用价值<sup>[13]</sup>。Wu 等<sup>[14]</sup>筛查出能被 MHC-I 亚型 HLA-A0201 识别的抗原肽表位,通过与 DC 融合可诱导产生 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞和 EGFRvⅢ 特异性细胞毒性 T 淋巴细胞。

钥孔戚血蓝蛋白(keyhole limpet hemoeyanin, KLH)具有很强的抗原性,可以作为蛋白载体携带肿瘤抗原、激活 DC 细胞,在肿瘤免疫治疗中有广泛的应用。用 EGFRvⅢ 的多肽片段 PEP-3 与 KLH 构成多肽疫苗,发现被免疫的小鼠有 70% 的皮下种植肿瘤未形成,其余 30% 肿瘤体积明显比对照组小。PEP-3-KLH 免疫的小鼠激活体液免疫和细胞免疫,同时自然杀伤细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞被激活,诱导巨噬细胞杀灭肿瘤细胞<sup>[15]</sup>。对应用了 EGFRvⅢ-KLH 疫苗的胶质母细胞瘤患者进行体液检测,在接种患者血清中检测到抗 EGFRvⅢ 和抗 KLH

抗体,发现在接种 PEPvⅢ(EGFRvⅢ-specific peptide)-KLH 后大量的肿瘤特异性抗原( $>4$  microg/ml)可被诱导,即该疫苗可产生对 EGFRvⅢ的特异性免疫<sup>[16]</sup>。这为以 EGFRvⅢ为靶点的抗乳腺肿瘤疫苗研究及其可行性奠定了理论基础。

抗独特型抗体(Ab2 $\beta$ )具有模拟肿瘤抗原及免疫调节双重作用,可打破机体对肿瘤抗原的免疫耐受状态,且抗独特型抗体安全、可靠,因而被认为是一种颇有前景的肿瘤疫苗。Wikstrand 等<sup>[17]</sup>制备出针对 EGFRvⅢ的 Ab2 $\beta$ ,可诱发机体产生细胞和体液免疫,显示出明显的抗肿瘤效应,并在乳腺癌动物模型和临床试验中得到证实<sup>[18]</sup>。

## 2.4 抗体介导的靶向治疗

McAbY10 是特异针对人 EGFRvⅢ的一种鼠源性抗体,可同时识别人和鼠的肿瘤特异抗原,在体外抑制 DNA 合成和细胞增殖,产生补体或抗体介导的细胞毒作用。有学者制备出针对 McAbY10 的 7 个鼠源性抗体,其中 3 个抗独特型抗体在表达 EGFRvⅢ的肿瘤动物模型中,可作为疫苗产生抗肿瘤免疫反应,为 EGFRvⅢ阳性的乳腺癌患者提供了有效的免疫疗法。该研究还发现 EGFR 单克隆抗体(如 ICR16、ICR62 和 ICR80)不仅是 EGFR 最有效的配体,还可与过度表达 EGFRvⅢ的细胞结合<sup>[19]</sup>。在人外周血单核细胞中,大鼠 IgG2b 抗体 ICR62 对过度表达 EGFRvⅢ的 HC2 20d2 /c 细胞诱发出强烈的抗体依赖细胞介导的细胞毒性作用,提示 EGFR 单克隆抗体 ICR62 可与 EGFRvⅢ结合,诱发细胞毒性作用发挥抗肿瘤效应,为治疗表达 EGFR 和 EGFRvⅢ的肿瘤提供了思路<sup>[20]</sup>。

EGFRvⅢ的单克隆抗体 McAb80 能选择性作用于 EGFRvⅢ阳性肿瘤细胞,进一步提高了抗体的特异性及靶向性作用。有学者在此基础上将 McAb806 和 McAb528 两种抗体联合应用,发现两者可显著下调 EGFRvⅢ在肿瘤细胞中的表达,上调细胞周期抑制因子 p27,降低肿瘤增殖水平,为抗体在临床上的合理应用提供了理论依据<sup>[21]</sup>。而后 Patel 等<sup>[22]</sup>发现西妥昔单抗也能特异性结合 EGFRvⅢ,通过内化作用导致磷酸化 EGFRvⅢ在转染细胞中减少,细胞增殖能被抑制 40%~50%。

## 2.5 放射性同位素介导的靶向治疗

利用 EGFRvⅢ的特性构建载体与放射性同位素偶联,杀伤表达 EGFRvⅢ的癌细胞,其特异性强,可更有效治疗肿瘤,能成功解决目前载体普遍存在的靶向性及异质性问题。Denholt 等<sup>[23]</sup>发现 H-FALGEA-NH(2)能选择性结合 EGFRvⅢ,具有很高的诊断灵敏度。该研究将放射物标记 H-FALGEA-NH(2)作为各种癌症诊断、分期和治疗显像评估的因素。该研究为乳腺癌特

异性显像及放射治疗显示出良好的应用前景。

## 2.6 基因靶向治疗

Balyasnikova 等<sup>[24]</sup>成功在人间质干细胞表面表达 EGFRvIII 单链抗体,其能与跨膜血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor receptor transmembrane fragment, PDGFRtm)结合并在 86% 的胶质瘤细胞中高表达,提高了与表达 EGFRvIII 的人恶性胶质瘤细胞 U87 在体外的结合力,并且在体内有较强的持续抗肿瘤作用。人间质干细胞对肿瘤具有天然趋向性,而 EGFRvIII 又具有很强的特异性,两者结合为基因免疫治疗开辟出一条新的道路。

## 3 结语

EGFRvIII 是 EGFR 缺失型突变体,具有配体非依赖性激活下游信号传导系统以及只在恶性肿瘤细胞中表达的特性,成为肿瘤靶向治疗良好的靶点。目前,已有多株抗 EGFR/EGFRvIII 单克隆抗体,如 mAb806 处于临床 I 期阶段<sup>[25]</sup>,MDX-447 (Medarex)<sup>[26]</sup>和 EMD72000(matuzumab)<sup>[27]</sup>已进入临床 I、II 期阶段。人鼠嵌合单克隆抗体 IMC-C225<sup>[28]</sup>及全人源化单克隆抗体 ABX-EGF<sup>[29-30]</sup>已被美国食品及药物管理局批准用于临床治疗头颈癌和结直肠癌<sup>[31-32]</sup>。在检测方面,有文献报道已研究出一种新的 EGFRvIII 重组抗体,可以避免目前存在的与 wtEGFRvIII 交叉免疫的问题,检测 EGFRvIII 具有很强的特异性<sup>[33]</sup>。虽然目前取得了上述成果,但是学者们对 EGFRvIII 表达的量化标准仍需完善,EGFRvIII 在乳腺肿瘤中的调控机制、表达规律和生物学意义还需进一步确证和深入。本文所提到的针对 EGFRvIII 靶向治疗措施在体外细胞学实验和动物模型研究中均显示出良好的抗肿瘤效应;因此,针对 EGFRvIII 为靶点的乳腺肿瘤早期检测以及抗乳腺肿瘤的药物研究和开发具有广阔的前景。

【关键词】 表皮生长因子受体;III 型突变体;乳腺肿瘤;靶向治疗

【中图法分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

## 参考文献

- [1] Silva HA, Raimundo D, Dias MF, et al. Molecular detection of EGFRvIII-positive cells in the peripheral blood of breast cancer patients [J]. Eur J Cancer, 2006, 42(15): 2617-2622.
- [2] Yu H, Gong X, Luo X, et al. Co-expression of EGFRvIII with ErbB-2 enhances tumorigenesis; EGFRvIII mediated constitutively activated and sustained signaling pathways, whereas EGF-induced a transient effect on EGFR-mediated signaling pathways [J]. Cancer Biol Ther, 2008, 7(11): 1818 - 1829.
- [3] Friedman HS, Bigner DD. Glioblastoma multiforme and the epidermal growth factor receptor [J]. N Engl J Med, 2005, 353(19): 1997-1999.
- [4] Patel D, Lahiji A, Patel S, et al. Monoclonal antibody cetuximab binds to and down-regulates constitutively activated epidermal growth factor receptor vIII on the cell surface [J]. Anticancer Res, 2007, 27(5): 3355-3366.
- [5] Li G, Wong AJ. EGF receptor variant III as a target antigen for tumor immunotherapy [J]. Expert Rev Vaccines, 2008, 7(7): 977-985.
- [6] Stutz MA, Shattuck DL, Laederich MB, et al. LRIG1 negatively regulates the oncogenic EGF receptor mutant EGFRvIII [J].



- Oncogene, 2008, 27(43): 5741-5752.
- [7] Li B, Yuan M, Kim IA, et al. Mutant epidermal growth factor receptor displays increased signaling through the phosphatidylinositol-3 kinase/AKT pathway and promotes radioresistance in cells of astrocytic origin[J]. Oncogene, 2004, 23(26): 4594-4602.
  - [8] Theys J, Jutten B, Dubois L, et al. The deletion mutant EGFRvIII significantly contributes to stress resistance typical for the tumor microenvironment[J]. Radiother Oncol, 2009, 92(3): 399-404.
  - [9] Zhang Y, Su H, Rahimi M, et al. EGFRvIII-induced estrogen-independence, tamoxifen-resistance phenotype correlates with PgR expression and modulation of apoptotic molecules in breast cancer[J]. Int J Cancer, 2009, 125(9): 2021-2028.
  - [10] Luo X, Gong X, Tang K. Suppression of EGFRvIII-mediated proliferation and tumor genesis of breast cancer cells by ribozyme [J]. Int J Cancer, 2003, 104(6): 716-721.
  - [11] Allen LF, Lenehan PF, Eiseman IA, et al. Potential benefits of the irreversible pan-erbB inhibitor, CI-1033, in the treatment of breast cancer[J]. Seminars in oncology, 2002, 29(3): 11-21.
  - [12] Han W, Zhang T, Yu H, et al. Hypophosphorylation of residue Y1045 leads to defective downregulation of EGFRvIII[J]. Cancer biol ther, 2006, 5(10): 1361-1368.
  - [13] Gong J, Nikrui N, Chen D, et al. Fusions of human ovarian carcinoma cells with autologous or allogeneic dendritic cells induce antitumor immunity[J]. Immunology, 2000, 165(3): 1705-1711.
  - [14] Wu AH, Xiao J, Anker L, et al. Identification of EGFRvIII-derived CTL epitopes restricted by HLA A0201 for dendritic cell based immunotherapy of gliomas[J]. J Neurooncol, 2006, 76(1): 23-30.
  - [15] Heimberger AB, Crotty LE, Archer GE, et al. Epidermal growth factor receptor VIII peptide vaccination is efficacious against established intracerebral tumors[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(11): 4247-4254.
  - [16] Schmittling RJ, Archer GE, Mitchell DA, et al. Detection of humoral response in patients with glioblastoma receiving EGFRvIII-KLH vaccines[J]. J Immunol Methods, 2008, 339(1): 74-81.
  - [17] Wikstrand CJ, Cole VR, Crotty LE, et al. Generation of anti-idiotypic reagents in the EGFRvIII tumor-associated antigen system [J]. Cancer Immunol Immunother, 2002, 50(12): 639-652.
  - [18] Wang X, Ko EC, Peng L, et al. Human high molecular weight melanoma-associated antigen mimicry by mouse anti-idiotypic monoclonal antibody MK2-23: enhancement of immunogenicity of anti-idiotypic monoclonal antibody MK2-23 by fusion with interleukin 2[J]. Cancer Res, 2005, 65(15): 6976-6983.
  - [19] Modjtahedi H, Moscatello DK, Box G, et al. Targeting of cells expressing wild-type EGFR and type-III mutant EGFR (EGFRvIII) by anti-EGFR MAb ICR62: a two-pronged attack for tumor therapy[J]. Int J Cancer, 2003, 105(2): 273-280.
  - [20] Modjtahedi H, Moscatello DK, Box G, et al. Targeting of cells expressing wild-type EGFR and type-III mutant EGFR (EGFRvIII) by anti-EGFR MAb ICR62: a two-pronged attack for tumor therapy[J]. Int J Cancer, 2003, 105(2): 273-280.
  - [21] Perera RM, Narita Y, Furnari FB, et al. Treatment of human tumor xenografts with monoclonal antibody 806 in combination with a prototypical epidermal growth factor receptor-specific antibody generates enhanced antitumor activity[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(17): 6390-6399.
  - [22] Patel D, Lahiji A, Patel S, et al. Monoclonal antibody cetuximab binds to and down-regulates constitutively activated epidermal growth factor receptor vIII on the cell surface[J]. Anticancer Res, 2007, 27(5): 3355-3366.
  - [23] Denholt CL, Hansen PR, Pedersen N, et al. Identification of novel peptide ligands for the cancer-specific receptor mutation EGFRvIII using a mixture-based synthetic combinatorial library [J]. Biopolymers, 2009, 91(3): 201-206.
  - [24] Balyasnikova IV, Franco Gou R, Mathis JM, et al. Genetic modification of mesenchymal stem cells to express a single-chain antibody against EGFRvIII on the cell surface[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2010, 4(4): 247-258.
  - [25] Scott AM, Lee FT, Tebbutt N, et al. A phase I clinical trial with monoclonal antibody ch806 targeting transitional state and mutant epidermal growth factor receptors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(10): 4071-4076.
  - [26] Fury MG, Lipton A, Smith KM, et al. A phase-I trial of the epidermal growth factor receptor directed bispecific antibody MDX-447 without and with recombinant human granulocyte-colony stimulating factor in patients with advanced solid tumors[J]. Cancer Immunol Immunother, 2008, 57(2): 155-163.
  - [27] Ou C, Wu FX, Luo Y, et al. Expression and significance of epidermal growth factor receptor variant type III in hepatocellular carcinoma[J]. Ai Zheng, 2005, 24(2): 166-169.

- [28] Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck[J]. N Engl J Med, 2006, 354(6): 567-578.
- [29] 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.
- [30] Food KA, Yang XD, Weiner LM, et al. Preclinical and clinical evaluations of ABX-EGF, a fully human anti-epidermal growth factor receptor antibody[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004, 58(3): 984-990.
- [31] RochaLima CM, Soares HP, Raez LE, et al. EGFR targeting of solid tumors[J]. Cancer Control, 2007, 14(3): 295-304.
- [32] Overman MJ, Hoff PM. EGFR-targeting therapies in colorectal cancer[J]. Dis Colon Rectum, 2007, 50(8): 1259-1270.
- [33] Gupta P, Han SY, Hoqado Madruqa M, et al. Development of an EGFRvIII specific recombinant antibody[J]. BMC Biotechnol, 2010, 10: 72.

(收稿日期: 2009-11-22)

(本文编辑: 罗承丽)

李雨弥, 徐卫云. 表皮生长因子受体 III 型突变体靶向治疗乳腺肿瘤的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2010, 5(1): 82-87.