

表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂的研究与应用进展

曹圣洁, 李鹏运, 郑志兵*

国家应急防控药物工程技术研究中心 中国人民解放军军事科学院军事医学研究院, 北京 100850

【摘要】表皮生长因子受体(EGFR)是ErbB家族的成员,在细胞增殖、存活、迁移、黏附和分化方面发挥重要作用,其过表达与多种实体肿瘤相关,并已成为治疗非小细胞肺癌(NSCLC)的重要靶标。为了克服体内EGFR蛋白突变引起的通路异常激活及耐药性的问题,先后开发了3代EGFR酪氨酸激酶(TK)抑制剂用于临床治疗。第一代和第二代抑制剂因其获得性耐药和较大的不良反应而在临床应用中逐年减少。第三代EGFR-TK抑制剂奥西替尼不仅有效克服了甲硫氨酸(T790M)突变产生的耐药问题,同时保留了对野生型EGFR的选择性,极大地降低了不良反应,在临床上得到了广泛应用。然而部分患者在用药后发生EGFR C797S突变,从而产生耐药性,针对此突变的第四代EGFR-TK抑制剂已有报道。本文对EGFR及其抑制剂发展与临床应用的基本情况、近年来第三代及第四代EGFR-TK抑制剂的研究进展等进行综述,并对未来EGFR-TK抑制剂的发展前景进行展望。

【关键词】非小细胞肺癌;表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂;EGFR T790M突变;EGFR C797S突变;耐药性

【中图分类号】R977.3;R979.1

【文献标识码】B

【文章编号】1672-3384(2021)01-0006-06

Doi:10.3969/j.issn.1672-3384.2021.01.002

Latest research and application progress of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors

CAO Sheng-jie, LI Peng-yun, ZHENG Zhi-bing*

National Engineering and Technology Center of Emergency Prevention and Control Drugs, Institute of Pharmacology & Toxicology of AMMS, Beijing 100850, China

【Abstract】As a member of the ErbB family, epidermal growth factor receptor (EGFR) plays a pivotal role in cell proliferation, survival, migration, adhesion as well as differentiation. Accumulating studies have shown that aberrant expression of EGFR is related to multiple solid tumor types, and it has become a crucial target for the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC). In order to overcome the abnormal activation of signaling pathways and drug resistance caused by EGFR protein mutations, three generations of EGFR tyrosine kinase inhibitors (TKIs) have been developed for clinical treatment. Due to the acquired drug resistance and toxic side effects, the use of first and second generation inhibitors in clinical applications has decreased over the years. The third-generation EGFR TKI osimertinib not only efficiently targets the sensitizing mutation and T790M resistance mutation, but retains satisfactory selectivity for wild-type EGFR, greatly reduced toxicity, and has been widely used in clinical practice. Despite the clinical efficacy of the third-generation EGFR TKIs, EGFR C797S has been identified as a major drug resistance mechanism, leading to the development of the fourth-generation EGFR TKIs. This article summarizes the current situation of the development and clinical application of EGFR and its inhibitors, and reviews the research progress of the third and fourth generation EGFR TKIs in recent years and the prospect for the future development of EGFR tyrosine kinase inhibitors.

【Key words】non-small cell lung cancer; epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors; epidermal growth factor receptor T790M; epidermal growth factor receptor C797S; resistance

*通信作者:郑志兵, E-mail: zzbcaptain@aliyun.com

肺癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一,已成为我国城市人口恶性肿瘤死亡原因的第一位。其中,非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占所有肺癌的80%,约75%的患者发现时已处于中晚期,晚期NSCLC患者的5年生存率<5%^[1]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)与肿瘤细胞增殖、血管生成、肿瘤侵袭、转移及细胞凋亡密切相关,是治疗NSCLC的重要靶点^[2],EGFR酪氨酸激酶(EGFR tyrosine kinase, EGFR-TK)区域中的激活突变已被确定为NSCLC的致癌驱动因素^[3]。

EGFR的激活首先是配体诱导EGFR形成二聚体,从而刺激其细胞内激酶结构域,并导致EGFR在多个残基上自磷酸化,这种激活进一步激活了调节EGFR功能下游信号分子^[4]。EGFR在上皮、间质和神经元起源的组织中均可正常表达,与细胞的增殖、分化和发育相关^[5]。在肺癌、结肠癌等多种癌症中均发现了EGFR的过表达,在NSCLC中,40%~85%的患者发生了EGFR的过表达,这就为靶向治疗提供了可能^[6]。

EGFR突变发生在酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TK)结构域外显子18~21,外显子19的框内缺失占EGFR-TK激活突变的44%,外显子21的主要单点突变L858R占EGFR-TK激活突变的41%,这2种突变被称为经典激活突变。这些突变导致了EGFR激酶活性,进而增强下游信号通路。

1 第一代和第二代EGFR-TK抑制剂

第一代EGFR-TK抑制剂中的代表药物为吉非替尼(Gefitinib)和厄洛替尼(Erlotinib),用于EGFR激活突变阳性的NSCLC患者,其作用原理为通过与EGFR-TK区域的可逆性结合,竞争性抑制激酶结构域与ATP的结合,从而阻断肿瘤细胞增殖和抗凋亡的信号通路,抑制肿瘤细胞的生长^[2]。吉非替尼由阿斯利康公司研发,对EGFR突变抑制的 IC_{50} 值为33 nmol/L,其化学结构式见图1。厄洛替尼由OSI公司美国基因泰克公司和罗氏集团联合研发,对EGFR突变抑制的 IC_{50} 值为2 nmol/L,其化学结构式见图2。相关研究表明,接受第一代EGFR-TK抑制剂治疗的患者,在治疗约12个月后约50%患者出现了耐药性,

这与EGFR基因第20外显子的密码子790位苏氨酸突变为甲硫氨酸(T790M)密切相关^[7]。T790M突变主要是通过增加ATP对EGFR活性位点的亲和力而引起了耐药性,使其在临床应用上受限^[8]。

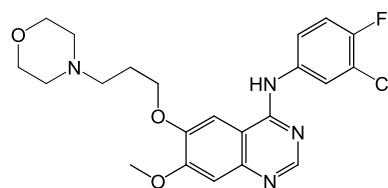


图1 吉非替尼的化学结构式

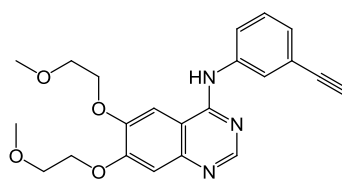


图2 厄洛替尼的化学结构式

第二代不可逆抑制剂阿法替尼(Afatinib)和达可替尼(Dacotinib)通过亲电麦克加成受体与靠近EGFR-ATP结合位点的半胱氨酸残基(Cys797)发生共价反应,克服了因T790M突变产生的耐药性。阿法替尼由Boehringer-Ingelheim公司研发,对EGFR突变抑制的 IC_{50} 值为10 nmol/L,其化学结构式见图3;达可替尼由Pfizer公司和奥克兰大学联合研发,对EGFR突变抑制的 IC_{50} 值为6 nmol/L,其化学结构式见图4。第二代EGFR-TK抑制剂缺乏对野生型EGFR的选择性,具有较严重的皮疹和胃肠道不良反应,导致其治疗窗狭窄而限制临床应用^[9]。

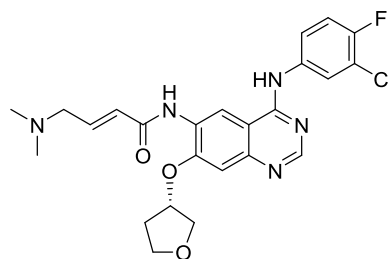


图3 阿法替尼的化学结构式

2 第三代EGFR-TK抑制剂

第一代EGFR-TK抑制剂因为T790M突变使其

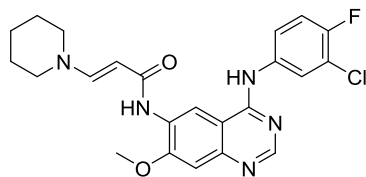


图4 达可替尼的化学结构式

临床应用受限,第二代EGFR-TK抑制剂由于缺乏对野生型EGFR的选择性而产生较严重的不良反应,限制其在临床上的广泛应用。因此,开发靶向T790M突变体且具有良好选择性的EGFR抑制剂具有重要的临床意义。下文介绍目前已上市第三代EGFR抑制剂的研究进展。

2.1 WZ4002

Gray小组通过筛选不可逆激酶抑制剂库发现了WZ4002,并将具有4-氨基嘧啶结构的化合物确定为第三代EGFR抑制剂^[10],其化学结构式见图5。WZ4002选择性抑制Ba/F3和H1975 NSCLC细胞中表达的EGFR T790M/L858R, IC_{50} 值分别为8和47 nmol/L,而对在Ba/F3细胞中表达的EGFR WT的 IC_{50} 值为113 nmol/L。

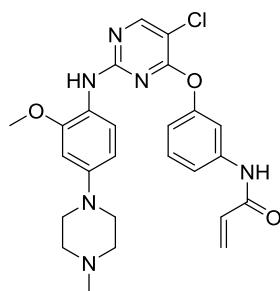


图5 WZ4002的化学结构式

WZ4002与EGFR T790M的分子结合模型显示,WZ4002以U形构象结合EGFR T790M,苯胺嘧啶核与铰链残基Met793形成了2个氢键,丙烯酰胺与Cys797形成了共价键。另外,Cl基团与门控残基Met790有相互作用,这可解释WZ4002对于EGFR WT和EGFR L858R/T790M抑制的分子选择性^[11]。尽管WZ4002未进入治疗NSCLC的临床试验,但WZ4002的发现为第三代EGFR T790M抑制剂的发现和发展起到了坚实的基础作用。

2.2 奥西替尼

奥西替尼(osimertinib,商品名:泰瑞沙)由阿斯利康公司研发,对EGFR突变抑制的 IC_{50} 值为11.44 nmol/L。奥西替尼通过其丙烯酰胺基团与EGFR T790M的Cys797形成共价键,氨基嘧啶核与Met793形成2个保守的氢键。甲基化的吡啶与Met790相邻,这可能与其对EGFR L858R/T790M和EGFR WT的抑制选择性有关^[12]。奥西替尼与EGFR T790M结合相互作用见图6^[11]。临床试验结果证实,在一线EGFR-TK抑制剂治疗期间发生疾病进展的T790M阳性突变晚期NSCLC患者(包括发生中枢神经系统转移的患者)中,相比于铂类药物联合培美曲塞,奥西替尼展现出更好的疗效^[13]。该药于2015年获得美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市,于2017年获得原国家药品监督管理局批准用于二线治疗EGFR T790M突变的NSCLC患者。2019年8月,国家药品监督管理局正式批准奥西替尼用于一线治疗EGFR突变的晚期NSCLC患者。

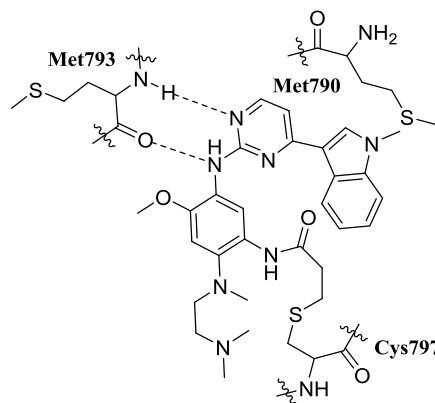


图6 奥西替尼与EGFR T790M结合相互作用示意图

2.3 罗西替尼

罗西替尼(Rociletinib, CO-1686)由Clovis Oncology公司研发,EGFR突变抑制的 IC_{50} 值为21.5 nmol/L。罗西替尼以U形构象与EGFR结合,氨基嘧啶骨架与Met793形成2个氢键,丙烯酰胺与Cys797形成共价键,三氟甲基基团与Met790相互作用,这可能与其对EGFR L858R/T790M和EGFR WT表现出抑制选择性的原因^[11]。罗西替尼与EGFR T790M结合相互作用见图7^[11]。

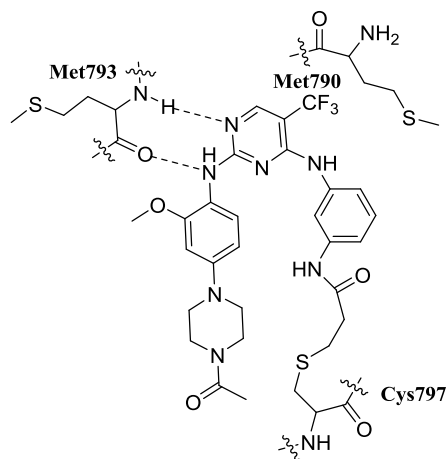


图7 罗西替尼与EGFR T790M结合相互作用示意图

在双突变 NSCLC 的小鼠异种移植和转基因的模型中,罗西替尼显示出了极强的抗肿瘤活性。然而,在 2016 年 5 月,克洛维斯肿瘤公司宣布终止所有正在进行的罗西替尼临床试验研究,原因是罗西替尼在临床试验中的客观应答率不足^[14]。目前罗西替尼的其他应用仍有待开发,已有相关研究表明 Rociletinib 在体内外能够增强 ABCG2 过表达癌细胞中化学治疗剂的功效^[15]。

2.4 奥美替尼

奥美替尼(HS-10296)由江苏豪森药业研发,其化学结构式见图 8。甲磺酸奥美替尼片于 2020 年 3 月 18 日获得国家药品监督管理局批准上市,用于 EGFR-TK 抑制剂治疗进展,且 T790M 突变阳性的局部晚期或转移性 NSCLC 成人患者^[16]。临床前和临床 I 期、II 期研究已证实奥美替尼疗效确切,且皮肤和胃肠道毒性较轻。目前正在进行奥美替尼对比吉非替尼一线治疗 EGFR 敏感突变晚期 NSCLC 患者有效性和安全性评价的 III 期临床研究[NCT02981108]。

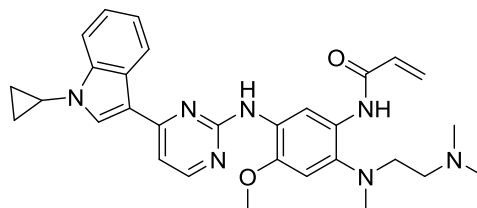


图8 HS-10296 的化学结构式

3 第四代 EGFR-TK 抑制剂

作为首个也是惟一获得 FDA 批准的用于 T790M 阳性晚期 NSCLC 患者的第三代 EGFR-TK 抑制剂,奥希替尼在用药 9~13 个月后会产耐药性。迄今报道的对第三代抑制剂的耐药机制包括 EGFR C797S 突变、EGFR L718Q 突变以及 HER-2、MET 和 ERBB2 的扩增^[17]。其中最普遍的是 C797S 突变,该突变阻止了其第三代抑制剂形成共价键,影响了半胱氨酸中硫醇侧链的共价结合,导致 TK 抑制剂与 EGFR 的结合能力降低^[18]。因此迫切需要能够有效抑制 EGFR L858R/T790M/C797S 突变的新颖 EGFR 抑制剂,已有几种不同结合方式的第四代抑制剂相继被报道。

3.1 EAI045

有研究表明非共价 EGFR T790M 抑制剂能够达到与共价抑制剂相当的功效,而不受 C797S 耐药性突变的影响^[11]。基于此,Jia 等^[19]通过利用高通量筛选 (high throughput screening, HTS) 策略发现了一种基于噻唑酰胺的新型 EGFR 变构抑制剂 EAI001,对 EAI001 进行结构优化,发现了化合物 EAI045,其对 L858R/T790M 突变具有更强的抑制效力和更高的抑制选择性。EAI001 和 EAI045 的化学结构式见图 9。

在携带 L858R/T790M 突变的 Ba/F3 细胞增殖试验中,EAI045 与西妥昔单抗 (Cetuximab, 商品名:爱

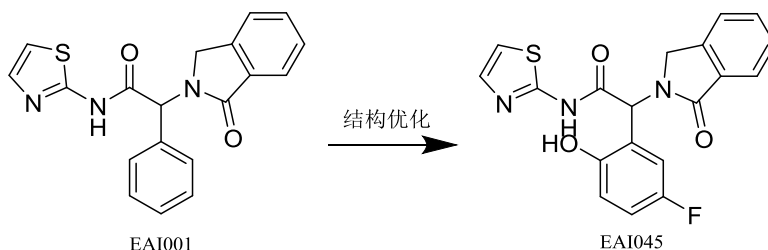


图9 EAI001 及其结构优化物 EAI045 的化学结构式

必妥)联合使用可阻止EGFR二聚化,使得EAI045显著抑制具有突变活性的细胞。西妥昔单抗是一种阻断EGFR二聚化的抗体,与EAI045联合使用的体外研究证明了EAI045对于包含T790M且处于单体状态的EGFR突变体具有抑制活性和抑制选择性^[19]。这是首个可以克服EGFR T790M和EGFR C797S突变的抑制剂报道,目前尚未进入临床试验。

3.2 JBJ-04-125-02

2019年7月,有文献^[20]报道了一种新型的变构抑制剂JBJ-04-125-02,为EAI045的结构类似物,其化学结构式见图10。在抗EGFR突变(包括C797S)肺癌的体内和体外试验模型中,JBJ-04-125-02单一用药均显示出良好的抗肿瘤效果。

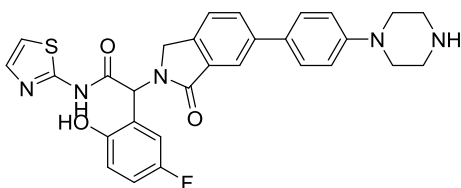


图10 JBJ-04-125-02的化学结构式

在一组EGFR L858R/T790M/C797S突变稳定转染的Ba/F3细胞系中,JBJ-04-125-02是惟一可以抑制细胞增殖的单一药物。同时,JBJ-04-125-02对亲代Ba/F3或野生型EGFR Ba/F3细胞的生长没有抑制作用。与EAI045单一用药以及EAI045与西妥昔单抗联合使用相比,JBJ-04-125-02也是最有效的。研究人员还发现,奥西替尼作为一种具有ATP竞争能力的EGFR共价抑制剂,可显著增强JBJ-04-125-02与突变EGFR的结合。与单独使用的任何一种药物相比,奥西替尼和JBJ-04-125-02联合可更显著地诱导细胞凋亡,有效地抑制肿瘤细胞生长,提高JBJ-04-125-02的体内和体外抗肿瘤作用。该发现提示,具有良好选择性的EGFR突变体共价结合ATP竞争性抑制剂与变构EGFR抑制剂的联合使用可能是未来EGFR突变型肺癌患者的有效治疗方法^[20]。

4 展望

EGFR-TK抑制剂是目前EGFR突变的晚期NSCLC患者的标准一线治疗方法。使用第一代EGFR-TK抑

制剂后,患者通常在治疗约12个月后出现T790M突变而导致其疗效显著降低。第二代不可逆抑制剂阿法替尼和达克替尼虽然克服了因T790M突变产生的耐药性,但由于缺乏对野生型EGFR的选择性,导致其治疗窗狭窄,临床应用受到限制。基于对T790M突变产生的获得性耐药机制以及剂量限制性毒性的研究,第三代EGFR-TK抑制剂保留了对EGFR野生型的选择性,通过共价修饰与EGFR-TK区域不可逆地结合,是T790M突变阳性患者的有效治疗方法。第三代EGFR-TK抑制剂的相关研究众多,但由于不良反应和(或)活性等原因,真正走向临床的药物数量有限,更有一些药物在Ⅲ期临床试验中由于出现较严重的不良反应,甚至导致患者死亡事件而被迫停止研发。但仍有如奥西替尼、奥美替尼等药物成功上市,罗希替尼等未能广泛应用于临床的药物也被开发出新的用药可能。然而使用奥西替尼进行一段时间治疗后,少数患者出现了EGFR C797S突变而产生了耐药性,能够有效抑制EGFR L858R/T790M/C797S突变的新型EGFR抑制剂有待开发。目前报道的多项研究成果为克服第三代EGFR-TK抑制剂耐药提供了可能,如第四代EGFR-TK抑制剂EAI045与西妥昔单抗联用;新结构化合物的开发为单独用药抑制EGFR C797S突变,克服耐药提供了可能。然而C797S突变并非第三代EGFR-TK抑制剂耐药的惟一机制,如EGFR L718Q突变虽较少发生,却代表了对奥西替尼产生耐药的另一种机制^[21],期待开发出针对该特定突变体的TK抑制剂。EGFR-TK抑制剂与其他药物的组合用药在未来可能成为克服多种耐药的新方向之一。相信会有更多的药物和疗法用于克服对TK抑制剂的耐药性,为NSCLC患者的靶向用药提供更多的临床用药选择。

【参考文献】

- [1] Wang S, Cang S, Liu D. Third-generation inhibitors targeting EGFR T790M mutation in advanced non-small cell lung cancer[J]. J Hematol Oncol, 2016, 12(9):34.
- [2] 业靖, 张小猛. 小分子表皮生长因子受体抑制剂研究新进展[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(17):2026-2033.
- [3] Hynes N E, Lane H A. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(5): 341-354.
- [4] Normanno N, De Luca A, Bianco C, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer[J]. Gene, 2006,

- 366(1):2-16.
- [5] Yano S, Kondo K, Yamaguchi M, et al. Distribution and function of EGFR in human tissue and the effect of EGFR tyrosine kinase inhibition[J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(5):3639-3650.
- [6] Singh M, Jadhav H R. Targeting non-small cell lung cancer with small-molecule EGFR tyrosine kinase inhibitors[J]. *Drug Discov Today*, 2018, 23(3):745-753.
- [7] Sullivan I, Planchard D. Next-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors for treating EGFR-mutant lung cancer beyond first line[J]. *Front Med*, 2017, 3:76.
- [8] Yun C H, Mengwasser K E, Toms A V, et al. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(6):2070-2075.
- [9] Sos M L, Rode H B, Heynck S, et al. Chemogenomic profiling provides insights into the limited activity of irreversible EGFR Inhibitors in tumor cells expressing the T790M EGFR resistance mutation[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(3):868-874.
- [10] Zhou W, Ercan D, Chen L, et al. Novel mutant-selective EGFR kinase inhibitors against EGFR T790M[J]. *Nature*, 2009, 462(7276):1070-1074.
- [11] Lu X, Yu L, Zhang Z, et al. Targeting EGFR L858R/T790M and EGFR L858R/T790M/C797S resistance mutations in NSCLC: Current developments in medicinal chemistry [J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(5):1550-1581.
- [12] Cross D A, Ashton S E, Ghiorghiu S, et al. AZD9291, an irreversible EGFR TKI, overcomes T790M-mediated resistance to EGFR inhibitors in lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(9):1046-1061.
- [13] Mok T S, Wu Y L, Ahn M J, et al. Osimertinib or platinum-pemetrexed in EGFR T790M-positive lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(7):629-640.
- [14] Chuang J C, Salahudeen A A, Wakelee H A. Rociletinib, a third generation EGFR tyrosine kinase inhibitor: current data and future directions[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2016, 17(7):989-993.
- [15] Zeng F, Wang F, Zheng Z, et al. Rociletinib (CO-1686) enhanced the efficacy of chemotherapeutic agents in ABCG2-overexpressing cancer cells in vitro and in vivo[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(5):799-811.
- [16] Lu S, Wang Q, Zhang G, et al. The third generation EGFR inhibitor (EGFR-TKI) HS-10296 in advanced NSCLC patients with resistance to first generation EGFR-TKI[J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(10):208-209.
- [17] Yu H A, Tian S K, Drilon A E, et al. Acquired resistance of EGFR-mutant lung cancer to a T790M-specific EGFR inhibitor: emergence of a third mutation (C797S) in the EGFR tyrosine kinase domain[J]. *JAMA Oncol*, 2015, 1(7):982-984.
- [18] Thress K S, Paweletz C P, Felip E, et al. Acquired EGFR C797S mutation mediates resistance to AZD9291 in non-small cell lung cancer harboring EGFR T790M[J]. *Nat Med*, 2015, 21(6):560-562.
- [19] Jia Y, Yun C H, Park E, et al. Overcoming EGFR (T790M) and EGFR (C797S) resistance with mutant-selective allosteric inhibitors[J]. *Nature*, 2016, 534(7605):129-132.
- [20] To C, Jang J, Chen T, et al. Single and dual targeting of mutant EGFR with an allosteric inhibitor [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(7):926-943.
- [21] Bersanelli M, Minari R, Bordi P, et al. L718Q mutation as new mechanism of acquired resistance to AZD9291 in EGFR-mutated NSCLC[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(10):121-123.

收稿日期:2020-08-20 本文编辑:郭美晨