

## KRAS小分子抑制剂的研究与应用进展

杨宁,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】** KRAS (Kirsten-RAS)是RAS(rat sarcoma)基因家族常见的突变基因之一,负责细胞生长、分化、增殖和生存信号通路的调控。KRAS突变后,其蛋白持续活化,异常激活下游信号通路,导致不受控制的细胞生长和肿瘤的产生。然而,市场上还没有直接针对KRAS并抑制其异常功能的药物,KRAS一度被认为不可成药靶标。随着KRAS<sup>G12C</sup>突变变构调节剂的发现和Sotorasib(研发代号:AMG510)的上市及其在临床上取得的突出应用效果终于打破了这一瓶颈,目前有大量的KRAS<sup>G12C</sup>突变变构调节剂、pan-KRAS抑制剂和KRAS(ON)抑制剂相继被发现并有多个药物处于临床研究阶段。此外,靶向降解KRAS<sup>G12C</sup>的蛋白降解靶向嵌合体(PROTAC)类药物研发也取得了突破进展,其独特的作用机制将开创KRAS药物研发的新方向,KRAS抑制剂临床应用中的耐药问题有望得到解决。本文对KRAS及其抑制剂的研发进展、临床应用情况、近年来KRAS抑制剂研究所面临的挑战及解决策略进行综述,并对未来KRAS抑制剂的发展前景进行展望。

**【关键词】** KRAS;突变;G12C;变构调节剂;抑制剂

**【中图分类号】** R979.1

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1672-3384(2022)03-0013-09

**Doi:** 10.3969/j.issn.1672-3384.2022.03.004

### Research advances and application progress of KRAS inhibitors

YANG Ning, 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】** KRAS(Kirsten-RAS) is one of the common mutated genes in RAS (rat sarcoma) gene family that acts as important switch in intracellular signaling pathways and plays a key role in regulation of cell proliferation, differentiation and survival. When KRAS is mutated, KRAS protein is continuously activated, which leads to the activation of multiple downstream signaling pathways and induces the occurrence and development of malignant tumors. However, the development of targeted drugs against KRAS gene mutations has failed, and KRAS was once considered to be an undruggable target. With the discovery of KRAS<sup>G12C</sup> mutant and the marketing of Sotorasib and its outstanding clinical application, this bottleneck has finally been broken. At present, a number of KRAS<sup>G12C</sup> mutation-allosteric modulators, pan-KRAS inhibitors and KRAS (ON) inhibitors have been discovered and several drugs are under clinical study. In addition, a breakthrough has been made in the development of proteolysis-targeting chimeras (PROTAC) drugs targeting KRAS<sup>G12C</sup> degradation. Its unique mechanism of action will create a new direction for KRAS drug development and is expected to solve the problem of drug resistance in the clinical application of KRAS inhibitors. Herein, we reviewed the research and development progress and clinical application of KRAS and its inhibitors, as well as the challenges and solutions of KRAS inhibitor research in recent years, and the development prospects of KRAS inhibitors in the future.

**【Key words】** KRAS; mutation; G12C; allosteric regulator; inhibitor

1982年,KRAS(Kirsten-RAS)被首次发现为人类肿瘤相关的致癌基因,该RAS家族的另外2个成员为

NRAS (neuroblastoma-RAS)和 HRAS (Harvey-RAS)。NRAS、HRAS和KRAS分别定位在1、11和12

\*通信作者:郑志兵,博士研究生,研究员,研究方向:新药合成与设计。E-mail:zzbcaptain@aliyun.com

号染色体上,其中KRAS是负责细胞生长、分化、增殖和生存信号通路的重要调控因子<sup>[1]</sup>。KRAS突变后异常激活下游多条信号通路,包括胞内磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路和RAS相关蛋白鸟苷酸交换因子(RAS related protein-guanine nucleotide exchange factor, Ral-GEF)信号通路,导致不受控制的细胞生长和肿瘤的产生。

作为人类癌症谱系中肿瘤发展最常见的驱动因素之一,KRAS的发现是癌症研究中的一个关键里程碑。然而从发现这一靶点之后的几十年里,还没有开发出直接针对KRAS并抑制其异常功能的药物。直到2021年5月28日,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准靶向抗癌药Sotorasib(研发代号:AMG510)上市,揭开了KRAS抑制剂研发的序幕,该药是一种高效、选择性和良好耐受性的KRAS<sup>G12C</sup>抑制剂,用于治疗非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)及结直肠癌成人患者。目前有大量的KRAS<sup>G12C</sup>突变变构调节剂、pan-KRAS抑制剂和KRAS(ON)抑制剂相继被发现并多个药物处于临床研究阶段。此外,靶向降解KRAS<sup>G12C</sup>的蛋白降解靶向嵌合体(proteolysis targeting chimeras, PROTAC)类药物研发也取得了突破进展,其独特的作用机制将开创KRAS药物研发的新方向,KRAS抑制剂临床应用中的耐药问题有望得到解决。本文对KRAS及其抑制剂的研发进展、临床应用情况、近年来KRAS抑制剂研究所面临的挑战及解决策略进行综述,并对未来KRAS抑制剂的发展前景进行展望。

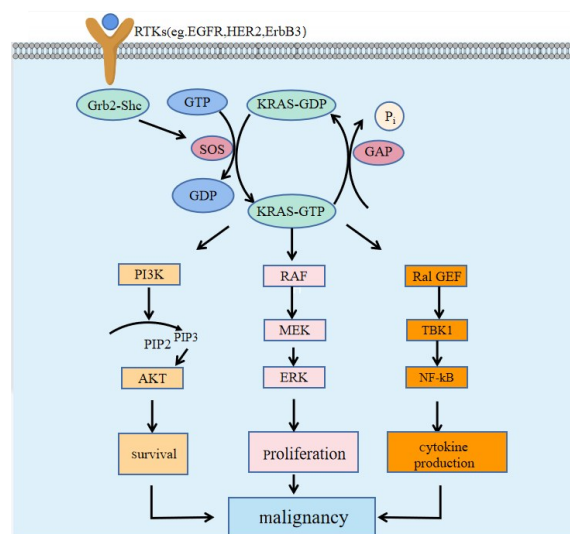
## 1 KRAS蛋白及其信号传导机制

KRAS基因编码的蛋白是一种小的鸟嘌呤核苷三磷酸(guanosine triphosphate, GTP)水解酶,相对分子质量为21.6 KD,在细胞生长和增殖中起着重要作用<sup>[2]</sup>。该蛋白由4个结构域构成,第1个结构域和第2个结构域构成的G结构域对KRAS信号传导起关键作用<sup>[3]</sup>。

正常细胞中,细胞膜上的表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)等与细胞膜外

配体形成二聚体,二聚体自身磷酸化后激活下游的信号蛋白。其中1条信号通路可激活生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor-bound protein 2, Grb2),再激活鸟苷酸交换因子SOS,进而活化KRAS蛋白<sup>[4]</sup>。

在细胞内,KRAS蛋白在GTP和鸟嘌呤核苷二磷酸(guanosine diphosphate, GDP)结合构象之间循环,当KRAS与GTP结合时激活下游通路,而与GDP结合时则抑制下游通路<sup>[5]</sup>。KRAS蛋白在激活和失活构象之间循环,此循环受鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)和GTP酶激活蛋白(GTPase-activating protein, GAP)调节。GEF催化KRAS与GTP结合,活化KRAS蛋白;GAP催化与KRAS结合的GTP水解为GDP,使KRAS蛋白失去活性<sup>[6]</sup>。KRAS在一般情况下处于失活状态,但其可以被EGFR等上游的信号因子激活,进而活化MEK和ERK。此外,KRAS也可以刺激PI3K,激活MTOR和AKT信号通路。这些信号通路在细胞生长、分化、增殖的调控等方面具有重要作用<sup>[7]</sup>。KRAS信号通路见图1<sup>[8]</sup>。



注:RTK表示受体酪氨酸激酶;EGFR表示表皮生长因子受体;Grb2表示生长因子受体结合蛋白2;GTP表示鸟嘌呤核苷三磷酸;GDP表示鸟嘌呤核苷二磷酸;GAP表示GTP酶激活蛋白;SOS表示鸟苷酸交换因子;PI3K表示胞内磷脂酰肌醇激酶;PIP2表示磷脂酰肌醇4,5-二磷酸;PIP3表示三磷酸肌醇;AKT表示蛋白激酶B;survival表示生存、生长;Ral-GEF表示RAS相关蛋白鸟苷酸交换因子;TBK1表示tank结合激酶1;NF-κB表示核转录因子-κB;proliferation表示增殖;cytokine production表示细胞因子产生;malignancy表示恶性肿瘤

图1 KRAS信号通路

## 2 KRAS 突变

野生型的 KRAS 通过维持细胞内 GTP 和 GDP 的稳态平衡, 调节细胞内信号通路的传导。KRAS 突变主要集中在第 12、13 及 61 号密码子上, 最常见 12 位密码子突变。当 KRAS 基因中第 12 个密码子由甘氨酸突变为半胱氨酸后, 会影响 GAP 与 KRAS 的结合, 从而抑制与 KRAS 结合的 GTP 水解。随着 GTP 不断积累, KRAS 与 GTP 的结合更容易, 从而活化更多的 KRAS 蛋白<sup>[9]</sup>, 最终异常激活下游的多条信号通路, 扰乱生长规律, 刺激细胞持续生长增殖, 造成肿瘤的产生, 因此, KRAS 突变是重要的癌驱动因子。此外, KRAS 突变也是肿瘤形成的早期表现, EGFR 靶向药物治疗肿瘤患者前, 必须检测 KRAS 基因是否突变。如果 KRAS 基因突变, 则不建议使用 EGFR 靶向药物治疗<sup>[10]</sup>。由此可见, KRAS 基因的突变在一定程度上也影响了抗肿瘤药物的疗效。

KRAS 突变种类多, 分布范围广。在 KRAS 第 12 位的密码子突变中, 主要有 KRAS<sup>G12C</sup>、KRAS<sup>G12V</sup> 和 KRAS<sup>G12D</sup>。其中, KRAS 突变中约 44% 为 KRAS<sup>G12C</sup>, NSCLC 腺癌在 KRAS<sup>G12C</sup> 突变中最常见, 约占 14%; 其次是大肠腺癌, 占 3%~4%; 胰腺癌占 2%。KRAS<sup>G12V</sup> 和 KRAS<sup>G12D</sup> 突变常见于胰腺癌和结直肠癌等<sup>[11]</sup>。人类癌症中 RAS 突变比例见图 2<sup>[12]</sup>。

## 3 KRAS 抑制剂

### 3.1 KRAS 竞争抑制剂

KRAS 突变作为癌症最常见的驱动因素之一, 几十年来, 基于传统的药物开发理论, 研究人员一直在努力寻找直接靶向 KRAS 的分子钥匙, 最后都以失败告终<sup>[13]</sup>, 使 KRAS 一度被认为是不可成药靶标。直接靶向 KRAS 的竞争抑制剂研发失败, 主要有以下几点原因: ①KRAS 与底物 GTP 的结合非常强, 亲和系数达到皮摩尔浓度( $10^{-12}$ )级, 而正常细胞里面 GTP 的浓度, 达到了微摩尔浓度( $10^{-6}$ )级。这也使得直接靶向 GTP 口袋(pocket)竞争抑制剂难以开发; ②随着 KRAS 蛋白结构的不断解析, 研究发现, KRAS 蛋白表面类似一个光滑的圆球, 缺少药物结合的口袋<sup>[14]</sup>; ③KRAS 除了驱动肿瘤发生发展外, 也是正常细胞活动所必需的蛋

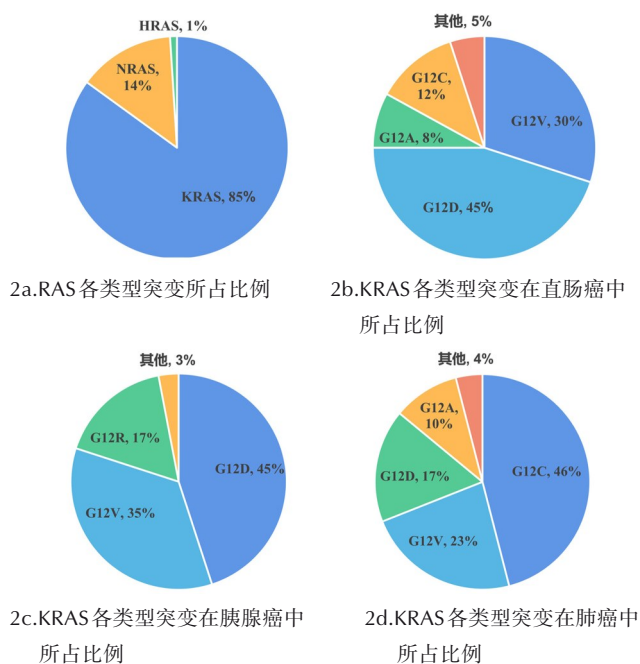


图 2 人类癌症中 RAS 突变比例

白, 靶向突变型 KRAS 活性位点的小分子往往能抑制野生型 KRAS 活性, 因而表现出较大的毒性和不良反应。因此, 很难开发有效的竞争性抑制剂。

### 3.2 KRAS 变构调节剂

随着结构生物学的不断发展, KRAS 的晶体结构被解析。KRAS 蛋白表面有 2 个开关即 switch I 和 switch II。研究发现, KRAS 与 GTP 结合时, 2 个开关处于闭合状态, 此时 KRAS 蛋白处于活性构象。当 KRAS 与 GDP 结合时, switch I 和 switch II 处于开启状态, 此时 KRAS 蛋白处于非活性构象。由于 switch II 区域的蛋白质具有高度的可变性, 抑制剂与 switch II 区域的蛋白质发生构象改变, 使抑制剂发挥变构调节作用, 导致 KRAS 更多地处于非活性构象, 进而阻断依赖 KRAS 蛋白的信号传递。因此, 开发针对 KRAS 并抑制其异常功能的变构调节剂, 使靶向 KRAS 突变体成为可能<sup>[15]</sup>。

**3.2.1 KRAS<sup>G12C</sup> 变构调节剂** 在 KRAS<sup>G12C</sup> 突变蛋白中, 突变后的半胱氨酸 cys12 提供 1 个潜在的共价位点。当带有共价弹头的抑制剂与突变的 cys12 共价结合后, 诱导 switch II 区域产生 1 个新的变构口袋 S-II P, 并且小分子抑制剂延伸到该变构口袋与相应氨基酸发生相互作用, 使 KRAS 蛋白构象发生改变。上述作用能降低 GTP 与 KRAS 的亲和力, 阻碍 GEF 催化



GDP替换GTP,进而将KRAS<sup>G12C</sup>突变体锁定在失活状态<sup>[16]</sup>。基于这一作用位点的研究,开发了多款靶向KRAS<sup>G12C</sup>的小分子抑制剂,见表1。

2021年5月28日,首款针对KRAS突变的靶向药物Sotorasib被美国FDA批准。该款药物是由安进公司开发的KRAS<sup>G12C</sup>抑制剂。主要通过将KRAS锁定在非活性构象,不可逆地抑制KRAS<sup>G12C</sup>。研究发现,KRAS<sup>G12C</sup>蛋白的95位组氨酸(His)翻转而形成的表面凹槽可以被Sotorasib芳香环占据,进一步增强该抑制剂与KRAS<sup>G12C</sup>蛋白的结合力,在人MIAPaCa细胞系和NCI-H358细胞系中显示良好的抗肿瘤效果,其半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值分别为0.009和0.006 μmol/L。在免疫小鼠中,Sotorasib成功地消退KRAS<sup>G12C</sup>驱动的癌症。其化学结构式见图3。

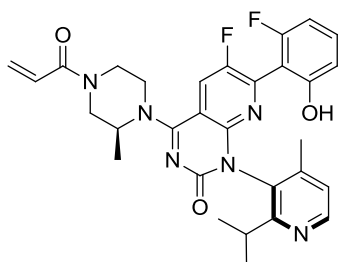


图3 Sotorasib的化学结构式

在2019年美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)上公开了Sotorasib研究数据,入组的10例NSCLC患者中,4例患者病情稳定(stable disease, SD),达到部分缓解(partial response, PR)的患者占50%,疾病的控制率达90%;1例阑尾癌和18例结直肠癌患者总的疾病控制率达

74%。在2019年世界肺癌大会(World Conference on Lung Cancer, WCLC)上公布的结果显示,入组的23例NSCLC患者中,客观缓解率(objective response rate, ORR)达48%;接受最高剂量960 mg的患者ORR达54%,疾病总的控制率达100%<sup>[17]</sup>。Sotorasib打破了KRAS不可成药的瓶颈,也给广大肿瘤患者带来了福音。

Mirati Therapeutics公司也紧随其后,研发了KRAS<sup>G12C</sup>抑制剂Adagrasib(研发代号:MRTX849),该抑制剂在临床试验中也显示出良好的抗肿瘤效果<sup>[18]</sup>。Adagrasib与KRAS<sup>G12C</sup>的cys12共价结合,并延伸到变构口袋S-II P。KRAS蛋白被锁定在非活性构象,从而抑制RAS/MAPK激酶信号传导。其化学结构式见图4。

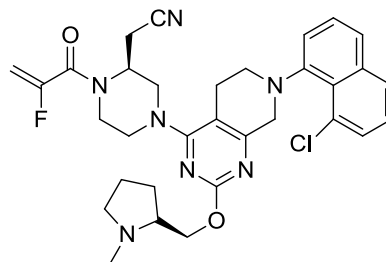


图4 Adagrasib的化学结构式

Adagrasib口服生物利用度达到30%,并具有广泛的组织分布以及线性药物代谢动力学,单次给药后半衰期长达25 h。在17株KRAS<sup>G12C</sup>突变株中,Adagrasib抑制了大多数细胞株的生长,在2D细胞培养中IC<sub>50</sub>在0.010和0.973 μmol/L之间,在3D细胞培养中IC<sub>50</sub>为0.200~1.042 nmol/L,具有良好的抑制活

表1 已上市和处于临床前或临床试验阶段的KRAS<sup>G12C</sup>小分子变构调节剂

化合物编号	研发公司	试验阶段及上市情况	适应证
Sotorasib	安进	已上市	非小细胞肺癌
Adagrasib	Mirati Therapeutics	Ⅲ期临床试验	非小细胞肺癌、结直肠癌、胰腺癌
ARS-853	Wellspring	临床前试验暂停	非小细胞肺癌,结直肠癌
ARS-1620	Wellspring	临床前试验	—
ARS-3248	Wellspring	I期临床试验	晚期实体瘤
GDC-6036	罗氏	I/II期临床试验	KRAS <sup>G12C</sup> 突变晚期或转移性实体瘤
JDQ443	诺华	I/II期临床试验	拟开发治疗KRAS <sup>G12C</sup> 突变的晚期实体瘤
LY3537982	礼来	I期临床试验	KRAS <sup>G12C</sup> 突变晚期或转移性实体瘤
D-1553	益方生物	I/II期临床试验	KRAS <sup>G12C</sup> 突变的非小细胞肺癌、结直肠癌等

注:—表示该数据未报道

性。临床研究结果表明,Adagrasib单药治疗KRAS<sup>G12C</sup>突变结直肠癌患者ORR为17%,疾病控制率为94%;单药治疗KRAS<sup>G12C</sup>突变晚期/转移性NSCLC的患者,ORR达45%,疾病控制率达96%<sup>[19]</sup>。

罗氏公司正在开发一款靶向KRAS<sup>G12C</sup>突变体的不可逆共价抑制剂,研发代号为GDC-6036,目前处于I期临床试验阶段。在临床前研究中,其已经在多个患者来源的KRAS<sup>G12C</sup>细胞系和异种移植小鼠模型中表现出良好的抑制肿瘤活性,并且具有与其他疗法产生协同作用的潜力。其化学结构式见图5。

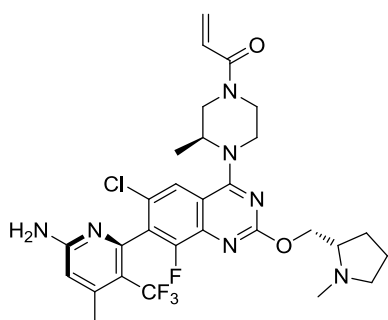


图5 GDC-6036的化学结构式

JDQ443是诺华公司开发的一款口服选择性KRAS<sup>G12C</sup>抑制剂,能够不可逆地将KRAS<sup>G12C</sup>锁定在失活状态,拟开发治疗KRAS<sup>G12C</sup>突变的晚期实体瘤,在临床前研究中表现出良好的抗癌活性,在全球范围内正处于I/II期临床试验阶段。其化学结构式见图6。

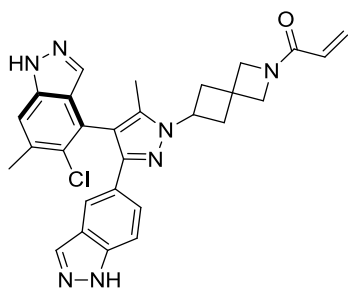


图6 JDQ443的化学结构式

2019年,礼来公司开发的首个KRAS<sup>G12C</sup>抑制剂LY3499446开启了临床研究,但由于该抑制剂的安全性问题,临床研究被终止。令人可喜的是,在2021年美国癌症研究协会(American Association for Cancer Research, AACR)上公布了新一代KRAS<sup>G12C</sup>抑制剂

LY3537982的临床前活性数据。据公开数据显示,LY3537982也是共价KRAS<sup>G12C</sup>抑制剂,在KRAS<sup>G12C</sup>突变的人H23、H358肺癌细胞系中表现出较高的靶标抑制活性,IC<sub>50</sub>分别为1.04和1.16 nmol/L。在KRAS<sup>G12C</sup>突变的H358细胞中,LY3537982的IC<sub>50</sub>较Adagrasib和Sotorasib至少提高了10倍以上<sup>[20]</sup>。其化学结构式见图7。

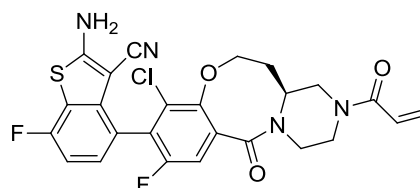


图7 LY3537982的化学结构式

D-1553是益方生物公司自主研发的一款KRAS<sup>G12C</sup>抑制剂,用于治疗KRAS<sup>G12C</sup>突变的NSCLC、结直肠癌等癌症,目前正在澳大利亚、美国、中国等国家及地区启动了国际多中心I/II期临床试验。其化学结构式见图8。

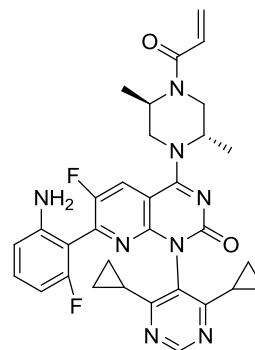


图8 D-1553的化学结构式

**3.2.2 KRAS<sup>G12D</sup>变构调节剂** 在KRAS的亚型中,KRAS<sup>G12D</sup>也是一种常见的亚突变,其中结直肠癌占45%,胰腺癌占45%,NSCLC占17%。最近研究发现,一款具有高活性、高选择性的非共价KRAS<sup>G12D</sup>抑制剂MRTX1133显示出巨大潜力<sup>[21]</sup>。该分子C4位置的质子化哌嗪基与天冬氨酸asp12形成盐桥,C2位置带正电的吡咯烷基部分与谷氨酸glu62发生良好的离子相互作用,C7位置的萘基占据了1个深的疏水口袋,通过与KRAS蛋白switch II区域的上述氨基酸相互作用导致KRAS蛋白构象改变而发挥变构作用,使KRAS

信号通路在含有 KRAS<sup>G12D</sup> 突变的细胞和肿瘤环境中的功能受到抑制,从而达到抗肿瘤的效果。

体内抗移植瘤研究中,MRTX1133在胰腺癌和结肠癌的动物模型上均显示出对 KRAS 持续剂量依赖性抑制,并且在 3 mg/kg 水平就可以有效抑制 KRAS<sup>G12D</sup> 突变型移植瘤的生长。其化学结构式见图 9。

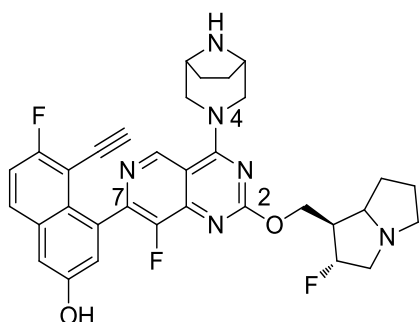


图9 MRTX1133 的化学结构式

### 3.3 靶向多种 KRAS 突变体(pan-KRAS)的抑制剂

pan-KRAS 抑制剂主要是通过通过与 SOS 蛋白结合,使 SOS 蛋白不能发挥其催化 KRAS 与 GTP 结合的作用,阻止 KRAS 由非活性状态向活性状态的转变,进而使 KRAS 处于失活状态<sup>[22]</sup>。

奥地利科学家 Norbert Kraut 和 Macro Hofmann 带领的研究小组公布了 1 款 pan-KRAS 抑制剂 BI-3406,可用于多种 KRAS 的突变<sup>[23]</sup>。无论 KRAS 如何突变,该抑制剂都可通过与 SOS1 结合来实现 KRAS 信号通路的阻断。另外,BI-3406、Sotorasib 和 MEK 抑制剂 Trametinib 三者的联合应用,还能增强抑制肿瘤的效果。BI-3406 的化学结构式见图 10。

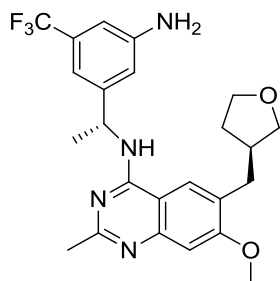


图10 BI-3406 的化学结构式

Boehringer Ingelheim 开发的 BI-1701963 是首款 pan-KRAS 抑制剂。目前正处于 I 期临床试验阶段。临床前数据表明,pan-KRAS 抑制剂可以抑制

KRAS<sup>G13</sup> 和 KRAS<sup>G12</sup> 突变蛋白的活性,进而达到抑制肿瘤的效果<sup>[24]</sup>。

### 3.4 KRAS(ON)抑制剂

目前靶向 KRAS<sup>G12C</sup> 的抑制剂都是通过小分子和蛋白结合,使 KRAS<sup>G12C</sup> 被锁定在非活性状态,促使已经处于活性状态的 KRAS<sup>G12C</sup> 耗尽,即 KRAS(OFF) 机制。然而在 GTP 转化为 GDP 的过程中,仍有少量处于和 GTP 结合的活性构象,给予肿瘤细胞可乘之机。

KRAS 突变体难于靶向的 1 个主要原因是其表面没有适合与小分子药物结合的口袋,而 Revolution Medicines 发现,处于激活状态的 KRAS 蛋白与伴侣蛋白(cyclophilin A)结合时,能够形成 1 个可以被小分子药物靶向的口袋。基于这一策略,Revolution Medicines 开发了系列新型 KRAS 小分子抑制剂并将其命名为 KRAS(ON)抑制剂,其机制是 KRAS(ON)抑制剂阻止 cyclophilin A 和正处于激活状态中的 KRAS 结合,使已经处于激活状态的 KRAS 不能发挥生物学效应,进而切断 KRAS 下游信号的传递,与 KRAS(OFF) 抑制剂相比,此类抑制剂可能更有效<sup>[25]</sup>。

目前在 Revolution Medicines 研发管线中,RMC-6291 主要根据 KRAS(ON)策略所研发,暂处于临床前申报阶段,预计于 2022 年上半年提交临床研究申请(investigational new drug,IND)。RMC-6291 主要作用于 KRAS<sup>G12C</sup>(ON)和 NRAS<sup>G12C</sup>(ON)。试验数据表明,Adagrasib(100 mg/kg)和 RMC-6291(25 mg/kg)抑制肿瘤效果相当<sup>[26]</sup>。

## 4 KRAS 抑制剂面临的挑战与解决策略

### 4.1 KRAS 抑制剂面临的挑战

针对 KRAS<sup>G12C</sup> 突变蛋白已有 Sotorasib 上市,并在临床应用中取得了良好的效果,突破了 KRAS 蛋白不可成药的瓶颈。然而,抑制剂持续给药后也会不可避免产生获得性耐药。耐药机制大致为以下几类:KRAS 的二次突变(包括 G12R/V/D/W、G13D、Q61H、R68S、H95R/Q/D、Y96C 或 KRAS<sup>G12C</sup> 等位基因的扩增);获得性旁路的激活(包括 RTK-RAS 信号通路、MET 通路的增强);涉及编码 RAF 家族丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的基因(BRAF)、编码肝细胞生长因子受体的基因(MET)、编码间变性淋巴瘤激酶的基因(ALK)、编码受体酪氨酸

激酶的基因(RET)等一系列基因的异常。

KRAS 通路的复杂性和 KRAS 突变的多样性使 KRAS 抑制剂容易耐药,对开发下一代更有效的 KRAS<sup>G12C</sup> 抑制剂带来了一定的挑战。在临床治疗中,新的治疗策略需要不断被开发,延缓和克服耐药性。此外,由于耐药性是通过多种机制产生的,需开发更有效的联合治疗方案来治疗 KRAS<sup>G12C</sup> 突变癌症并应对 KRAS<sup>G12C</sup> 抑制剂治疗期间出现的耐药机制。

## 4.2 KRAS 抑制剂耐药的解决策略

### 4.2.1 蛋白质降解靶向嵌合体药物

近年来,PROTAC 受到人们的广泛关注。作为一种新型靶向蛋白降解(targeted protein degradation, TPD)方式,PROTAC 是一类双靶点嵌合体分子,由 3 个部分组成:招募 E3 泛素连接酶的配体、靶向结合目标蛋白(protein of interest, POI)的配体以及两者之间的连接链(linker)。PROTAC 与目标蛋白及 E3 泛素连接酶形成稳定三元复合物,导致 POI 的多聚泛素化,并随后被 26S 蛋白酶体降解,进而调节细胞内因各种信号异常过度表达蛋白的水平,从而达到抑制肿瘤生长的效果<sup>[27]</sup>。

2020 年 4 月, Crews 课题组开发了 PROTAC 分子 LC-2,是首个报道可以降解内源性 KRAS<sup>G12C</sup> 突变体的 PROTAC<sup>[28]</sup>。首先是利用 Adagrasib 和 VHL 配体合成

了 PROTAC 分子 LC-1,但未对 KRAS 进行有效降解。LC-1 的一个主要缺点是在连接剂内存在可水解酰胺。为了解决这一问题,去除连接链上易溶于水的酰胺基团并优化连接链碳链长度,筛选出了最优的 PROTAC 分子 LC-2。LC-2 中的 Adagrasib 片段与 KRAS<sup>G12C</sup> 共价结合后,招募 E3 泛素连接酶蛋白,进而降解 KRAS<sup>G12C</sup> 突变体,使 KRAS<sup>G12C</sup> 细胞系中的 MAPK 信号得到抑制。该研究表明,PROTAC 介导的 KRAS 降解是一种全新机制的药物发现策略,可降低癌细胞中致癌 KRAS 水平进而抑制下游信号转导。由于其可以不作用于活性位点,对靶标不需要强的持续结合,可彻底降解靶标蛋白,因此,PROTAC 药物可以有效解决 KRAS 抑制剂耐药问题。LC-1 与 LC-2 的化学结构式见图 11 与图 12, LC-1 与 LC-2 的细胞活性,见表 2。

### 4.2.2 KRAS 抑制剂与其他靶点抑制剂联合用药

近来的临床数据表明, KRAS<sup>G12C</sup> 抑制剂单药治疗产生的耐药性已经在 NSCLC 患者中出现, Sotorasib 对结直肠癌患者的缓解率低于 10%<sup>[29]</sup>。因此组合疗法逐渐被医药企业所关注。研究表明,靶向 RAF 二聚体或其下游的 MEK、ERK,这是增强 KRAS<sup>G12C</sup> 抑制剂效果的一种方法,并且联合 PI3K 或 mTOR 的抑制剂比单独使用 KRAS 抑制剂效果更加显著<sup>[30]</sup>。目前,临床试验

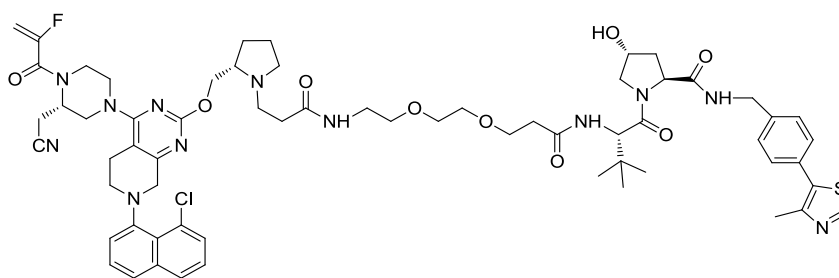


图 11 LC-1 的化学结构式

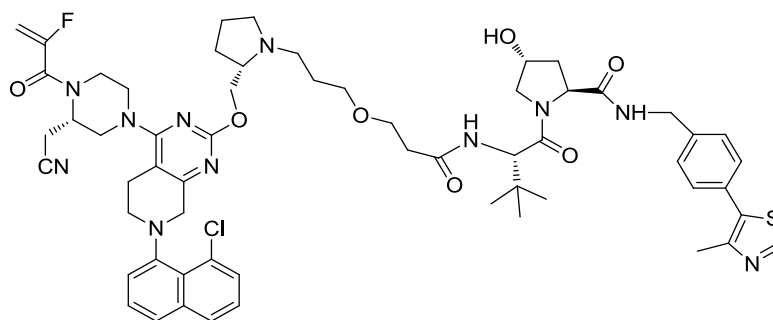


图 12 LC-2 的化学结构式



表2 LC-1和LC-2的细胞活性

药物名称	DC <sub>50</sub> (μmol/L)	D <sub>max</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (μmol/L)
LC-1	—	30(NCI-H2030)	>10(NCI-H2030)、1.3(NCI-H23)
LC-2	0.59(NCI-H2030)、0.76(NCI-H23)	75(NCI-H2030)、90(NCI-H23)	3.8(NCI-H2030)、2.9(NCI-H23)

注:DC<sub>50</sub>表示降解蛋白50%时药物浓度;D<sub>max</sub>表示最大降解蛋白的百分数;EC<sub>50</sub>表示药物达到最大临床疗效(可以是抑制或者刺激)50%时的药物浓度;NCI-H2030和NCI-H23表示人非小细胞肺癌细胞;—表示无法查询或未报道

正在评估 Sotorasib 和 MEK 抑制剂联合治疗方案的疗效。此外,安进公司正在研究 Sotorasib 与程序性死亡受体-1(programmed cell death 1, PD-1)抗体帕博利珠单抗的联合用药方案的疗效。单独使用 PD-1 抑制剂时,在 10 只携带 KRAS<sup>G12C</sup> 突变肿瘤的小鼠中,仅 1 只小鼠的肿瘤完全消退,单独使用 Sotorasib 的效果与之类似,但当联合用药时,10 只小鼠中有 9 只表现出肿瘤的完全消退,且未出现复发<sup>[31]</sup>。

## 5 总结与展望

KRAS 作为肿瘤中常见的突变基因之一,多年来,基于传统靶向 KRAS 活性位点的小分子抑制剂开发均以失败告终,因此 KRAS 蛋白也被称为不可成药的靶标。然而,近年来针对 KRAS 突变的共价抑制剂研发成功突破了其不可成药的瓶颈。目前已有多种 KRAS<sup>G12C</sup> 共价抑制剂处于临床开发和应用阶段,其中安进公司研发的 Sotorasib 已批准上市,处于暂时领先,但以 Adagrasib 为代表的诸多竞争者已紧随其后。而且各公司以满足临床需求为出发点,采取差异化布局以寻求竞争优势,针对 KRAS 靶标开发了结构与作用机制多样、具有良好应用前景的药物。

当前 KRAS 抑制剂在临床应用中取得了良好的治疗效果,但也面临因 KRAS 突变而产生的获得性耐药问题。KRAS 抑制剂与 SHP2 抑制剂等其他药物联合用药方案的相继提出与应用虽然部分缓解了一些耐药问题,但还远远不够。基于突变 KRAS 蛋白研发的 PROTAC 药物具有独特的抗肿瘤机制,将是未来针对 KRAS 靶标的明星药物,也有望解决 KRAS 抑制剂的耐药问题。其次,加速开发 KRAS<sup>G12C</sup> 突变体之外的其他 KRAS 突变体靶向药物,如 KRAS<sup>G12D</sup>、KRAS<sup>G12V</sup>、KRAS<sup>G13</sup>、KRAS<sup>G61</sup> 等突变体抑制剂,也是非常重要和有效解决现有药物耐药的途径。KRAS-PROTAC 药物将是未来 KRAS 抑制剂发展的新趋势和热点。相信

会有越来越多的靶向药物被人们发现,并有效克服药物耐药性难题,为患者用药提供更多选择。

## 【参考文献】

- [1] Herbst RS, Schlessinger J. Small molecule combats cancer-causing KRAS protein at last[J]. Nature, 2019, 575(7782): 294-295.
- [2] Kessler D, Gmachl M, Mantoulidis A, et al. Drugging an undruggable pocket on KRAS[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(32):15823-15829.
- [3] Stephen AG, Esposito D, Bagni RK, et al. Dragging ras back in the ring[J]. Cancer Cell, 2014, 25(3):272-281.
- [4] 李博,谭斌,全旭. KRAS 相关信号通路与小分子抑制剂研究进展[J]. 药学进展, 2021, 45(5):382-392.
- [5] Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web[J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(11):761-774.
- [6] Cagir A, Azmi A. KRASG12C inhibitors on the horizon[J]. Future Med Chem, 2019, 11(9):923-925.
- [7] Fruman DA, Chiu H, Hopkins BD, et al. The PI3K pathway in human disease[J]. Cell, 2017, 170(4):605-635.
- [8] Liu P, Wang Y, Li X. Targeting the untargetable KRAS in cancer therapy[J]. Acta Pharm Sin B, 2019, 9(5):871-879.
- [9] Peeters M, Kafatos G, Taylor A, et al. Prevalence of RAS mutations and individual variation patterns among patients with metastatic colorectal cancer: a pooled analysis of randomised controlled trials[J]. Eur J Cancer, 2015, 51(13):1704-1713.
- [10] 王建飞,韩晓红,石远凯. KRAS 基因突变检测对结直肠癌靶向治疗的临床指导意义[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(3):3.
- [11] Lu S, Jang H, Nussinov R, et al. The structural basis of oncogenic mutations G12, G13 and Q61 in small GTPase K-Ras4B[J]. Sci Rep, 2016, 6:21949.
- [12] Uprety D, Adjei AA. KRAS: from undruggable to a druggable cancer target[J]. Cancer Treat Rev, 2020, 89:102070.
- [13] Lu S, Jang H, Muratcioglu S, et al. Ras conformational ensembles, allostery, and signaling[J]. Chem Rev, 2016, 116(11):6607-6665.
- [14] McCarthy MJ, Pagba CV, Prakash P, et al. Discovery of high-affinity noncovalent allosteric KRAS inhibitors that disrupt effector binding[J]. ACS Omega, 2019, 4(2):2921-2930.
- [15] Lu J, Harrison RA, Li L, et al. KRAS G12C drug development: discrimination between switch II pocket configurations using hydrogen/deuterium-exchange mass spectrometry[J]. Structure, 2017, 25(9):1442-1448.
- [16] Zeng M, Xiong Y, Safaee N, et al. Exploring targeted degradation strategy for oncogenic KRAS(G12C)[J]. Cell Chem Biol, 2020, 27(1):19-31.
- [17] laslc.org. Phase 1 study shows novel KRAS inhibitor well toler-



- ated by patients with adenocarcinoma and non-small cell lung cancer [EB/OL]. (2019-09-08) [2021-12-20]. <https://www.iaslc.org/iaslc-news/press-release/phase-1-study-shows-novel-kras-inhibitor-well-tolerated-patients>.
- [18] 贾淑密,高永鑫,崔华清. KRASG12C 小分子抑制剂的研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2021, 31(8):605-617.
- [19] Dana-farber. Targeted inhibitor of mutated KRAS gene shows promise in early trial for lung, bowel, and other solid tumors [EB/OL]. (2020-10-25) [2021-12-22]. <https://www.dana-farber.org/newsroom/news-releases/2020/targeted-inhibitor-of-mutated-kras-gene-shows-promise-in-early-trial-for-lung--bowel--and-other-solid-tumors>.
- [20] Peng SB, Si C, Zhang Y, et al. Abstract 1259: preclinical characterization of LY3537982, a novel, highly selective and potent KRAS-G12C inhibitor[C].Philadelphia: AACR Annual Meeting, 2021.
- [21] Wang X, Allen S, Blake JF, et al. Identification of MRTX1133, a noncovalent, potent, and selective KRAS(G12D) inhibitor [J]. J Med Chem, 2021.Doi:10.1021/acs.jmedchem.1c01688.
- [22] Plangger A, Rath B, Hochmair M, et al. Cytotoxicity of combinations of the pan-KRAS inhibitor BAY-293 against primary non-small lung cancer cells[J]. Transl Oncol, 2021, 14(12): 101230.
- [23] Hofmann MH, Gmachl M, Ramharter J, et al. BI-3406, a potent and selective SOS1-KRAS interaction inhibitor, is effective in KRAS-driven cancers through combined MEK inhibition [J]. Cancer Discovery, 2021, 11(1):142-157.
- [24] Boehringer I. Boehringer ingelheim advances first pan-KRAS inhibitor BI 1701963 into clinical testing[EB/OL]. (2019-10-29) [2021-12-28]. <https://www.boehringer-ingelheim.com/press-release/first-pan-kras-inhibitor-advances-clinical-testing>.
- [25] Ostrem JM, Shokat KM. Direct small-molecule inhibitors of KRAS: from structural insights to mechanism-based design[J]. Nat Rev Drug Discov, 2016, 15(11):771-785.
- [26] AACR. Discovery and development of RAS (ON) inhibitors beyond KRASG12C[EB/OL].(2021-10-10)[2022-01-10].<https://ir.revmed.com/static-files/ad588f56-5608-4ad6-9816-be40b38eb974>.
- [27] Nalawansha DA, Crews CM. PROTACs: an emerging therapeutic modality in precision medicine [J]. Cell Chem Biol, 2020,27(8):998-1014.
- [28] Bond MJ, Chu L, Nalawansha DA, et al. Targeted degradation of oncogenic KRAS (G12C) by VHL-recruiting PROTACs [J]. ACS Cent Sci,2020,6(8):1367-1375.
- [29] Awad MM, Liu S, Rybkin II, et al. Acquired Resistance to KRAS (G12C) Inhibition in Cancer [J]. N Engl J Med, 2021, 384(25):2382-2393.
- [30] 卞赞艺,杨晓冬,詹成,等. KRAS 基因突变及靶向药物的研究进展[J]. 复旦学报, 2020, 47(3):139-447,455.
- [31] Canon J, Rex K, Saiki AY, et al. The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity [J]. Nature, 2019, 575(7781):217-223.

收稿日期:2022-02-05 本文编辑:任洁