

· 综述 ·

威罗菲尼和易普利单抗治疗恶性黑色素瘤中继发耐药机制的研究进展

王传振, 马淑梅, 王娟, 陈秀华*

(中国医药工业研究总院上海医药工业研究院创新药物与制药工艺国家重点实验室, 上海 200437)

摘要: 酪氨酸激酶抑制剂威罗菲尼和免疫抑制剂易普利单抗于2011年获美国食品药品监督管理局批准用于恶性黑色素瘤(MM)的治疗。通过研究靶向药物和免疫药物的耐药机制,发现肿瘤微环境、信号转导通路及细胞因子等在继发耐药中均具有重要作用。本文简要综述上述两药的继发耐药机制和克服耐药策略的研究进展。

关键词: 恶性黑色素瘤;威罗菲尼;易普利单抗;耐药

中图分类号:R979.1 文献标志码:A 文章编号:1672-9188(2014)06-S37-04

S37

2014 Vol.35 No.6

Advance on acquired drug-resistance of vemurafenib and ipilimumab in malignant melanoma

WANG Chuan-zhen, MA Shu-mei, WANG Juan, CHEN Xiu-hua*

(State Key Lab of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry,
China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437, China)

Abstract: Targeted therapy drug vemurafenib and immunotherapy drug ipilimumab were approved for the treatment of malignant melanoma (MM) in 2011. According to the further study on resistance mechanism, tumor microenvironment, signaling pathways and cell factors play an important role in the complex multi-pathway of acquired drug-resistance, which affects clinical ending point. This review summarizes the drug-resistance mechanism of vemurafenib and ipilimumab, and addresses the new strategies to overcome this acquired drug-resistance.

Key words: malignant melanoma; vemurafenib; ipilimumab; drug-resistance

恶性黑色素瘤(MM)是一种高度恶化、易于转移,且预后差并对放化疗不敏感的恶性皮肤肿瘤。我国MM发病率有成倍增长的势头,每年新发病例约20 000例,已成为发病率增长最快的恶性肿瘤之一^[1]。2011年,美国食品药品监督管理局(FDA)批准了聚乙二醇干扰素 α -2b(peginterferon α -2b, Sylatron)、易普利单抗(ipilimumab, Yervoy)和威罗菲尼(vemurafenib, Zelboraf)这3种新药用于治疗MM,打破了MM患者长期接受细胞毒类药物治疗的局面。然而,与MM标准治疗药物(如达卡巴嗪、替莫唑胺)类似,新药也面临着复杂的耐药途径,从而导致临

床疗效不佳。其中,威罗菲尼和易普利单抗前期效果较好,但在耐药途径激活后,患者病情急剧恶化而引起停药或死亡,这种快速转变,更多的是由肿瘤微环境、信号转导通路及细胞因子等继发耐药机制发挥作用。本文简要综述上述两种药物继发耐药机制以及克服耐药的研究进展。

1 MM的发病机制

1.1 基因突变和信号转导通路的异常

黑色素细胞中多个结构基因的突变和多条信号转导通路的异常促进了MM的发生、发展、增殖、侵袭和转移。在MM起始阶段,癌基因活化或抑癌基因的缺失,导致黑色素细胞的遗传调控发生变化。然而,早期的基因突变(单基因突变为主)还不足以形成肿瘤细胞的无限增殖和侵袭特性,需另外的分子事件,如细胞周期蛋白的变异和信号通路

收稿日期:2013-06-09;修回日期:2014-02-14

作者简介:王传振,在读硕士研究生,研究方向为抗肿瘤药物药理学。

通信作者:陈秀华,研究方向为抗肿瘤药物药理学及作用机制研究和抗肿瘤药物筛选。

的异常。MM 细胞存在多种异常信号转导通路,包括 RAS-RAF-MEK-ERK 途径(通过 BRAF、NRAS 或 KIT 基因突变)和协同的 PI3K-AKT 途径(通过 NRAS、PTEN 或 PIK3CA 基因突变);控制细胞周期和凋亡的 p16INK4A-CDK4-RB 途径(通过 INK4 或 CDK4 基因突变)与 ARF-p53 途径(通过 ARF 或 p53 基因突变)等^[2]。这些信号通路的改变使黑色素细胞逐渐形成分裂、转移和耐药的生物特性,同时诱导周边细胞产生新的生理稳态,加剧肿瘤恶化进程。

1.2 免疫抑制的发生

在 MM 的恶化过程中,免疫抑制使肿瘤细胞逃过免疫系统的识别和攻击,继而导致肿瘤的侵袭和转移。T 细胞表面的跨膜受体—细胞毒 T 淋巴细胞抗原-4(CTLA4)是一种白细胞分化抗原,其与 B7 分子结合后可诱导 T 细胞无反应性,参与免疫反应的负调节。

2 耐药机制

2.1 威罗菲尼

选择异常信号转导通路中的重要靶点设计抑制剂(如酪氨酸激酶抑制剂)成为治疗 MM 的研究热点。研究显示,BRAF 基因突变率为 25.9%,其中 BRAFV600E 是最常见的突变位点(87.3%),这为使用 BRAFV600E 抑制剂(威罗菲尼)提供了理论基础^[3]。信号转导通路的再度激活以及胰岛素生长因子受体(IGFR)等信号通路的改变、微环境中基质细胞的保护和抗凋亡基因的活化均可导致耐药作用。

2.1.1 信号转导通路的再度激活

有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路在 MM 的发生、发展、增殖、浸润和转移中都具有重要作用。威罗菲尼通过选择性抑制 BRAFV600E,引起 MAPK 信号通路的中断致肿瘤细胞凋亡。当肿瘤组织受到损害时,肿瘤内的候选蛋白被激活,进一步刺激受体酪氨酸激酶(RTK)的磷酸化导致酪氨酸激酶的活化逆转药物的作用;上游的 Nras 基因的活化引起信号的上调,通过 PI3K 信号途径激活有丝

分裂原活化蛋白激酶激酶(MAPKK)和细胞外信号调节激酶(ERK),导致 MAPK 活化细胞的增殖和生长^[4-5]。信号通路间的交互作用,如上游的 COT 和 MAPK 的蛋白激酶的上调均影响着威罗菲尼的疗效^[5-6]。

2.1.2 微环境在耐药中的作用

微环境中的基质细胞分泌肝细胞生长因子(HGF)导致 Met 受体激活,从而重新激活 MAPK 和 PI3K-AKT 信号通路,降低威罗菲尼的疗效。免疫组学研究证实,BRAF 突变黑色素瘤患者体内基质细胞可表达 HGF,而后的表达与威罗菲尼耐药相关^[7]。此外,成纤维细胞分泌的成纤维细胞生长因子(FGF-3)可引起 MAPK 和 RAS 的再度活化,而药物逆调节作用会平衡信号通路的抑制效应,产生耐药作用^[4]。

肿瘤组织内部存在着不同表面抗原的黑色素瘤细胞,其有着明显的异质性,可形成不同的亚群细胞。当威罗菲尼作用于一种亚群细胞引起该亚群细胞凋亡时,其他亚群细胞会重新进入原肿瘤细胞位置,导致肿瘤再生。目前研究较为清楚是 CD20+、ABCB5+ 和 CD133+ 细胞亚群,这些亚群细胞存在着对不同药物敏感的特质,生理特性也存在不同^[8]。

2.1.3 抗凋亡途径对耐药的作用

在 MM 细胞中,研究最充分的抑癌基因是第十号染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白基因(PTEN),耐药细胞株中 PTEN 的丢失,使药物不能有效抑制肿瘤,引起肿瘤细胞耐药。p53 抑癌途径的缺失在部分肿瘤细胞株中也可观察到^[9]。p63 可通过降低细胞对药物的敏感性,导致耐药发生^[10]。Bcl-2 基因可引起抗凋亡作用,也在降低细胞对药物的敏感性中起作用。核因子 κ B(NF- κ B)和凋亡抑制基因均在肿瘤细胞的抗凋亡中起明显作用,是耐药机制中的重要组成部分^[11]。

2.2 易普利单抗

2.2.1 细胞因子介导的免疫抑制

免疫治疗药物易普利单抗可与 CTLA4 结合,阻断 CTLA4 对 B7 的抑制性信号,通过双信号途径激

活 T 细胞, 从而调动特异性抗肿瘤免疫反应^[12]。肿瘤细胞利用细胞因子抑制免疫途径, 以逃避免疫系统的识别和“排除异己”, 包括自分泌的细胞因子的天然免疫抑制以及旁分泌的细胞因子的选择性免疫抑制。自分泌的细胞因子如肿瘤细胞分泌的特异性转录因子 (M-MITF), 可受 TGF- β 和 GL-12 的影响, 在微环境中产生免疫抑制作用^[13]。旁分泌的细胞因子, 如腺苷、前列腺素 E₂ (PGE₂)、转化生长因子 - β (TGF- β) 和血管内皮生长因子 -A (VEGF -A), 可通过抑制树突状细胞的呈递, 抑制 T 细胞的渗透或增强肿瘤特异性调节性 T 细胞 (Treg) 功能来间接抑制 T 细胞活性^[14]。如肿瘤细胞在缺氧条件下产生腺苷, 后者可抑制 T 细胞的活性和增强 Treg 扩增能力^[15]。

2.2.2 相关细胞的作用

骨髓来源抑制性细胞 (MDSC) 可通过多种机制抑制 T 细胞和 NK 细胞的免疫活性, 在促进细胞分化的同时, 增加了肿瘤细胞的耐药性^[13]。MDSC 可诱导 Treg 肿瘤间质细胞, 在免疫调节中扮演着重要角色。成纤维细胞可通过促进招募和激活趋化因子 CCL2 和 CXCL12 或分泌 TGF- β 以抑制效应 T 细胞。骨髓衍生的间质细胞也可通过抑制效应 T 细胞的扩增, 产生重要的免疫抑制^[16]。

3 克服耐药的未来方向

尽管生物治疗、靶向治疗及免疫治疗的 3 类药物 (聚乙二醇干扰素 α -2b、威罗菲尼和易普利单抗) 的批准上市, 让 MM 患者点燃了治愈的希望, 但就单药的疗效而言, 却未超过治疗 MM 的金标准药物达卡巴嗪。到目前为止, 尚无 1 种单药治疗 MM 可达到满意的治疗终点。

3.1 联合用药

不同作用机制药物的联用和多靶点药物的研发或许可成为破解耐药性的主要策略。在 MAPK 耐药途径中, 应用 MEK 抑制剂可很好缓解或延迟耐药。在临床研究中虽未见 MEK 抑制剂曲美替尼疗效明显, 但其与其他酪氨酸激酶抑制剂联用, 却可提高

MM 患者的生存率并增加疗效, 且降低耐药性。曲美替尼联合磺酸伊马替尼治疗 MM 的临床研究已经进入 I 期临床, 且效果明显^[11]。此外, 免疫治疗药物的联用有着良好的应用前景, 如联用以 PD-L1 与 LAG-3 为靶点的抑制剂或以 PD-L1 与 Treg 为靶点的抑制剂均可缩小 MM 肿瘤组织, 且毒副作用未见增加。

3.2 肿瘤疫苗的开发

针对 MM 的特异性肿瘤疫苗的开发, 为 MM 的防治添加了一道安全屏障。MM 疫苗是以黑色素瘤细胞或肿瘤抗原物质, 或结合热休克蛋白和树突状细胞等, 来诱导机体产生特异性细胞和体液免疫, 达到杀死肿瘤细胞的目的, 是一种主动特异性免疫。临床研究中, DNA/RNA 核酸疫苗、神经节苷脂疫苗以及树突状细胞 (DC) 疫苗等均表现出不错的疗效。Van Nuffel 等^[17]以 DC 疫苗治疗 1 例化疗耐药的期 MM 患者, 结果显示, 患者无进展生存期超过 12 个月, 且诱导多种 T 细胞免疫反应并抑制肿瘤细胞的转移。

4 小结

MM 是放化疗均不敏感的顽固肿瘤, 内科治疗长期依赖细胞毒类药物。虽然威罗菲尼和易普利单抗的上市, 丰富了 MM 内科治疗的药物种类, 然而继发耐药却是靶向治疗和免疫治疗的重大威胁。整合现有的治疗手段, 尽可能降低或克服药物的继发耐药, 一方面, 可在分子水平上对患者进行个体化治疗; 另一方面, 不同信号转导通路抑制剂和免疫抑制剂及两者间的联合, 或多靶点药物或肿瘤疫苗的开发, 或许是 MM 未来治疗研究的发展方向。

参考文献:

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, *et al*. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] 许兴智, 佟伟民, 李静. 癌症的分子基础 [M]. 第 3 版, 北京: 科学出版社, 2011: 381-384.
- [3] CSCO 黑色素瘤专家委员会. 中国黑色素瘤诊治指南 (2011 版) [J]. 临床肿瘤学杂志, 2012, 17(2): 159-171.

- [4] Yadav V, Zhang X, Liu J, *et al.* Reactivation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway by FGF receptor 3 (FGFR3)/Ras mediates resistance to vemurafenib in human B-RAF V600E mutant melanoma[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(33): 28087-28098.
- [5] Le K, Blomain E, Rodeck U, *et al.* Selective RAF inhibitor impairs ERK1/2 phosphorylation and growth in mutant NRAS, vemurafenib-resistant melanoma cells[J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2013, 26(4): 509-517.
- [6] Corcoran RB, Ebi H, Turke AB, *et al.* EGFR-mediated reactivation of MAPK signaling contributes to insensitivity of BRAF mutant colorectal cancers to RAF inhibition with vemurafenib[J]. *Cancer Discov*, 2012, 2(3): 227-235.
- [7] Straussman R, Morikawa T, Shee K, *et al.* Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion[J]. *Nature*, 2012, 487(7408): 500-504.
- [8] Rajasekharan S, Jessie V, Meenhard H. Intratumoral heterogeneity as a therapy resistance mechanism: role of melanoma subpopulations[J]. *Adv Pharmacol*, 2012, 65: 335-359.
- [9] Strasberg Rieber M, Zangemeister-Wittke U, Rieber M. p53-independent induction of apoptosis in human melanoma cells by a bcl-2/bcl-xL bispecific antisense oligonucleotide[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7 (5) : 1446-1451.
- [10] Matin RN, Chikh A, Law Pak Chong SL, *et al.* p63 is an alternative p53 repressor in melanoma that confers chemoresistance and a poor prognosis[J]. *J Exp Med*, 2013, 210(3): 581-603.
- [11] Menaa F. Latest approved therapies for metastatic melanoma: what comes next?[J]. *J Skin Cancer*, 2013, 2013: 735282.
- [12] Graziani G, Tentori L, Navarra P. Ipilimumab: a novel immunostimulatory monoclonal antibody for the treatment of cancer[J]. *Pharmacol Res*, 2012, 65(1): 9-22.
- [13] Zhang B, Wang Z, Wu L, *et al.* Circulating and tumor-infiltrating myeloid-derived suppressor cells in patients with colorectal carcinoma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57114.
- [14] Khalili JS, Hwu P, Lizée G. Forging a link between oncogenic signaling and immunosuppression in melanoma[J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(2): e22745.
- [15] Goding SR, Wilson KA, Xie Y, *et al.* Restoring immune function of tumor-specific CD4+ T Cells during recurrence of melanoma[J]. *J Immunol*, 2013, 190(9): 4899-4909.
- [16] Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age[J]. *Nature*, 2011, 480(7378): 480-489.
- [17] Van Nuffel AM, Benteyn D, Wilgenhof S, *et al.* Intravenous and intradermal TriMix-dendritic cell therapy results in a broad T-cell response and durable tumor response in a chemorefractory stage -M1c melanoma patient[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(7): 1033-1043.

(责任编辑:赵绪韬)

本刊“医药专论”专题预告

本刊“医药专论”近期将推出“认知功能损害性疾病的临床治疗”专题

认知功能损害是老年群体常见的症状,严重者称为痴呆。阿尔茨海默病(AD)是老年期最常见的痴呆类型,故又冠名为老年性痴呆。AD患者多在痴呆期才被确诊,此时患者脑内神经元已发生不可逆损伤。因此,积极进行生物标志物的检测至关重要,同时及时和适时地对患者进行各方面评估也必不可少。目前,AD的诊断标准仍在不断深入研究和修订中。复旦大学附属华东医院神经内科魏文石主任组织的阿尔茨海默病的诊断进展一文就AD的最新诊断标准、生物标志物及评估量表三方面的进展进行综述。胆碱酯酶抑制剂及N-甲基-D-天冬氨酸拮抗剂对轻中度AD有一定疗效,但效果较缓和且为对症治疗,寻找更有效的药物势在必行。复旦大学附属华东医院神经内科魏文石主任组织的阿尔茨海默病治疗药物的开发及探索一文重点综述AD症状期药物的开发及临床前期的靶向干预研究。

血管性认知功能损害(VCI)涵盖范围从轻微认知损害到血管性痴呆(VaD),作为一种异质性疾病,VCI由脑血管病变或脑灌注受损引起,发病过程涉及多种病理生理机制。上海市浦南医院神经内科王宇卉主任组织的脑血管病与认知损害:病理机制与干预一文综述脑血管病引起的认知损害的机制以及干预的研究进展。

敬请关注本刊认知功能损害性疾病的临床治疗专题。