表皮生长因子受体与多形性胶质母细胞瘤放疗抵抗

宋海斌，褚　倩
(华中科技大学同济医学院附属同济医院，湖北 武汉 430030)

摘　要：多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme，GBM)是一类在形态学上具有异质性的原发性脑肿瘤，恶性程度极高，其标准治疗方法是手术+术后放疗+以替莫唑胺(temozolomide，TMZ)为基础的化疗。但 GBM 患者易对放疗产生抵抗以及对化疗耐药，该治疗方案的有效率有限，患者中位生存期约 15 个月。40%~50%GBM 患者体内存在表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor，EGFR)的扩增和过表达。全文对 EGFR 表达与 GBM 放疗抵抗的相关机制作一综述。
关键词：多形性胶质母细胞瘤；EGFR；放疗；抵抗
中图分类号：R739.41　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1004-0242(2013)07-0554-04
doi:10.11735/j.issn1004-0242.2013.07.A009

Epidermal Growth Factor Receptor and Its Resistance to Radiaotherapy in Glioblastoma Multiforme

SONG Hai-bin，CHU Qian
(Tongji Hospital，Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology，Wuhan 430030，China)

Abstract：Glioblastoma multiforme(GBM) is an aggressive primary brain tumor with morphologically heterogeneous，characterized by resistance to standard treatment modalities including surgery，radiation therapy and temozolomide(TMZ)-based chemotherapy. Due to its occurrence of resistance to ionizing radiation(IR) and chemotherapy，response of this therapeutic modality is limited and the median survival is about 15 months. Approximately 40%~50% of patients with GBM are characterized by gene amplification and overexpression of the epidermal growth factor receptor(EGFR). In this article，we discuss the EGFR signaling and the mechanism of resistance to radiation in patients with GBM.
Key words：glioblastoma multiforme; EGFR; radiation therapy;resistance

多形性胶质母细胞瘤(GBM)的恶性程度极高，约占成年人原发性中枢神经系统肿瘤的 25%。其标准治疗方法为手术+术后放疗+以替莫唑胺为基础的化疗，但部分患者对此治疗方案产生抵抗，预后较差[1]。研究发现 GBM 与多种基因突变相关，如表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor，EGFR)突变、10q 杂合性丢失、p53 突变、p16ink4a 缺失和 PTEN 突变等。约 63% GBM 患者存在 EGFR 信号通路的改变，表明 *EGFR* 基因突变与 GBM 放疗抵抗存在相关性[2]。

收稿日期：2013-02-07；修回日期：2013-03-19
通讯作者：**褚倩**，E-mail: qianchu@tjh.tjmu.edu.cn

1　EGFR 信号通路

EGFR 家族由 erbB1(HER1，EGFR)、erbB2 (HER2)、erbB3 (HER3) 和 erbB4 (HER4)4 个跨膜受体组成，是 1 条由 1 186 个氨基酸组成的多肽，由胞外配体结合域、跨膜结构域和胞内酪氨酸激酶结构域组成。EGFR 的配体包括表皮生长因子 (epidermal growth factor，EGF)、转化生长因子-α (transforming growth factor alpha，TGF-α)、肝素结合 EGF 样生长因子、β-细胞素、上皮调节蛋白和牛痘病毒生长因子[1]。EGFR 与不同配体结合形成 EGFR 同源二聚体或异源二聚体，使胞内酪氨酸残基磷酸化，调控下游信号

通路，包括 Ras/MAPK 信号通路、PLC-γ 信号通路和 PI3K 信号通路等，从而发挥基因调节、靶蛋白磷酸化、促进 DNA 修复等功能[3]，参与癌细胞生长、分化、凋亡、黏附、侵袭和血管生成[1]。

2 EGFR 信号通路改变

GBM 与 EGFR 信号通路异常有关，包括 *EGFR* 基因扩增、EGFR 过表达、EGFR 过度活化、EGFR 受体活性突变[1,4]。作为促存活信号通路，EGFR 活化可提高肿瘤的内在放疗抵抗。

2.1 EGFR 扩增与过表达

Gerlach 等[5]对 6 株原代培养的人脑胶质瘤细胞及 D384 与 Gli6 细胞系进行 2~10Gy 照射，提示 EGFR 基因扩增的细胞系放射敏感性相对较低。研究表明 GBM 中存在 EGFR 过表达，过表达的 EGFR 在人类上皮性肿瘤的发病机制中具有重要作用[6]。对 GBM 患者的一项临床研究提示 EGFR 过表达与放疗抵抗存在相关性[7]。韩国一项研究对 30 例行手术和辅助放疗的 GBM 患者进行 EGFR 免疫组化状态评估，其中 23 例存在 EGFR 表达(76.7%)，7 例无 EGFR 表达(23.3%)，EGFR 表达患者的中位生存期(12.5 个月)与 EGFR 不表达患者(17.5 个月)存在统计学差异(P=0.013)[8]。

2.2 EGFR 过度活化

2.2.1 配体过表达

异常配体分泌通过自分泌或旁分泌的形式使 EGFR 过度激活 [9]。在鳞癌 A431 和乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系中，放射线照射 120~180min 可促进转化生长因子(TGF)前体水解。放射线照射 120min 后，在培养基中加入未行放疗的细胞，可活化 EGFR 通路。Dent 等[10]实验发现应用抗 TGF 单克隆抗体可以抑制 EGFR 活化。说明低剂量放射线可以促进 TGF 分泌，TGF 与 EGFR 结合可诱导增殖和放疗后的细胞存活。

2.2.2 放射线暴露

放射线能诱导 EGFR 磷酸化，产生的放疗抵抗与 EGFR 表达水平相关[11,12]。有学者在实验中发现过表达 *(DN)Ad-EGFR-CD533* 基因的人胶质瘤细胞系放射敏感性增强。其机制为转染 *(DN)Ad-EGFR-CD533* 基因可抑制 EGFR 表达[13,14]。

2.3 EGFR 活化突变

GBM 中 EGFR 存在多种类型的活性突变，包括 vⅢ突变、JM 突变和 IC 突变：vⅢ突变为外显子 2–7 缺失突变，导致配体结合域丧失，胞内酪氨酸残基自体磷酸化；IC 突变导致负性调节结构域缺失，内化减少；JM 突变机制尚不明确[1]。EGFR vⅢ是结构性活化受体，在不同类型肿瘤细胞中均有较高表达，约 20%~30%GBM 患者存在 EGFR vⅢ表达[14,15]。将西妥昔单抗与表达 EGFR vⅢ的细胞共孵化，至少使 50%西妥昔单抗 EGFR vⅢ复合物内化，降低 EGFR vⅢ磷酸化，40%~50%细胞增殖受到抑制[16]。

3 EGFR 通路改变参与放疗抵抗的机制

有研究表明 EGFR 信号通路异常与 GBM 患者预后差相关，但也有研究表明 EGFR 不是 GBM 预后因子，甚至有相反的结果[17~19]。Brown 等[7]对 170 例 GBM 患者进行研究，发现 EGFR 免疫反应阳性提示患者对放疗反应差(P=0.046)，EGFR 阴性的 GBM 患者(33%)与中等强度阳性(18%)患者以及强阳性(9%)GBM 患者相比，放疗反应较好。CT 或 MR 成像显示放疗后病灶缩小 50%以上。有学者对接受放、化疗的 43 例幕上 GBM 患者和 7 例小脑 GBM 患者进行回顾性分析，发现 EGFR 阳性的幕上 GBM 患者生存期比 EGFR 阴性患者短(P=0.0248)，表明不同 EGFR 免疫反应状态 GBM 患者具有不同的放射敏感性[20]。

高活性 Ras 导致癌细胞产生放疗抵抗，一方面通过反义干扰 Raf，另一方面应用靶向 Ras 小分子抑制剂阻断 Ras 通路，使放疗敏感性增加[1,21]。由此可见，放疗可导致 EGFR 自体磷酸化，继而活化 Raf-1 和 MAPK 通路导致细胞增殖。

PI3K-Akt 信号通路作为 EGFR 下游通路参与多种细胞功能，如细胞凋亡、增殖、分化和转移等。同时，PI3k 参与生长因子受体酪氨酸激酶通路，上游受体活化激活 PI3K 产生 PIP3；而 PTEN 将 PIP3 转变为失活的 PIP2。GBM 通过 EGFR 过度活化直接活化 PI3K 或通过 Ras 间接活化 PI3K 导致放疗抵抗[22]。EGFR 活性改变也可导致 PI3K 通路的激活[23]。PTEN 作为 PI3K/Akt 通路的负性调节因子，在 GBM 患者体内常常缺失或突变[24]。有研究者应用强力霉

素诱导 PTEN 缺失的 U251 细胞系，导致 Akt 磷酸化增加，表明诱导 PTEN 表达可以降低 Akt 磷酸化并且使放疗敏感性增加，PTEN 参与放疗后 DNA 的损伤修复[25]。应用 PI3K 小分子抑制剂可以提高放射敏感性[1]。Li 等[24]对 U87MG 细胞系通过克隆生存分析发现抑制 EGFR、PI3K 和 Akt，或诱导产生野生型 PTEN，均可提高放疗敏感性。

DNA 修复过程需要酶的参与，应用 EGFR 单克隆抗体西妥昔单抗可使 DNA 依赖蛋白激酶（DNA-dependent protein kinase，DNA-PK）由细胞核转运至细胞质，从而使放疗诱导的潜在致死 DNA 双链断裂修复减少[1]。此外，有研究发现放疗诱导 EGFR 磷酸化，通过下游 PI3K 和 MAPK 通路激活 Y 盒结合蛋白（Y-box binding protein-1，YB-1）磷酸化，增强放疗后 DNA 双链断裂的修复和细胞存活[26]。

EGFR 通过 PI3K-Akt 信号通路活化 mTOR，活性 mTOR 促进低氧诱导因子 1-α（hypoxia-inducible factor-1 alpha，HIF1-α）生成，与 HIF1-β 形成二聚体驱动血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor receptor，VEGF）等多种低氧诱导基因转录。VEGF 与肿瘤细胞间隙水肿有关。水肿使肿瘤细胞内压力增加，减少微血管灌注，最终产生肿瘤内低氧状态，对放疗导致的致死效应产生抵抗。EGFR 抑制剂可以下调 VEGF 表达，提高肿瘤细胞的氧合状态，提高放疗敏感性[1]。实验证明 EGF 可激活 GBM 的 EGFR 通路，促进 VEGF 分泌。酪氨酸激酶抑制剂（tyrosine kinase inhibitors，TKI）、抗血管内皮生长因子受体（antivascular endothelial growth factor receptor，anti-VEGFR）与放疗联用可以降低放疗诱导的 VEGF 分泌[27]。

4 EGFR 抑制剂对 GBM 放疗敏感性的影响

EGFR 特异性抑制剂可以提高放射敏感性[6]。临床上常用的 EGFR 抑制剂包括针对 EGFR 的特异性单克隆抗体（monoclonal antibodies，mAbs）和小分子酪氨酸激酶抑制剂（tyrosine kinase inhibitors，TKI）两大类，均可提高放疗敏感性。

在鼠移植瘤模型中，EGFR 单克隆抗体尼妥珠单抗、西妥昔单抗与放疗联用延缓了 U87MG 细胞皮下移植瘤的生长，缩小了 U87MG 细胞颅内移植瘤的体积，抑制肿瘤的侵袭能力，减少放疗抵抗的 CD133+的肿瘤干细胞[28]。

有实验证明 TKI 吉非替尼（ZD1839，Iressa）与放疗联用于 EGFR 高表达的 U251GBM 细胞系，与单独放疗相比，细胞死亡率提高[29]。

另有实验表明，wtEGFR 过表达的 U87MG 细胞倍增时间短于 EGFR 无表达的 U87MG 细胞系（2.7d *vs* 4.41d）。TKI 联合放疗用于 wtEGFR U87MG 细胞系，细胞倍增时间较单纯放疗组延长（10.4d *vs* 4.8d，$P<0.001$）[30]。

5 展　望

EGFR 信号通路与肿瘤细胞生长、转移、耐药和预后均相关。GBM 中 EGFR 改变为特异性抗肿瘤治疗提供了靶点。合理利用 EGFR 与放疗抵抗的内在机制，针对 EGFR 本身或其下游通路应用各种抑制剂，可增强 GBM 的放疗敏感性，改善疗效及预后。

参考文献：

[1] Krishnan S，Rao RD，James CD，et al.Combination of epidermal growth factor receptor targeted therapy with radiation therapy for malignant gliomas[J].Front Biosci，2003，(8):e1–e13.

[2] Sibilia M，Kroismayr R，Lichtenberger BM，et al. The epidermal growth factor receptor: from development to tumorigenesis[J].Differentiation，2007，75(9):770–787.

[3] Lo HW. Nuclear mode of the EGFR signaling network: biology，prognostic value，and therapeutic implications[J]. Discov Med，2010，10(50):44–51.

[4] Huang PH，Xu AM，White FM.Oncogenic EGFR signaling networks in glioma[J].Sci Signal，2009，2(87):re6.

[5] Gerlach B，Harder AH，Hulsebos TJ，et al.Radiosensitivity and TP53，EGFR amplification and LOH10 analysis of primary glioma cell cultures[J].Strahlenther Onkol，2002，178(9):491–496.

[6] Aaron RH，Lillian LS. Epidermal growth factor receptor targeting in head and neck cancer: have we been just skimming the surface? [J].Journal of Clinical Oncology，2013.[Epub ahead of print].

[7] Brown PD，Krishnan S，Sarkaria JN，et al.Phase Ⅰ/Ⅱ trial of erlotinib and temozolomide with radiation therapy in the

treatment of newly diagnosed glioblastoma multiforme: north central cancer treatment group study N0177[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(34): 5603–5609.

[8] Kao GD, Choi Y, Song YJ, et al. Epidermal growth factor receptor is related to poor survival in glioblastomas: single-institution experience[J]. Yonsei Med J, 2013, 54(1):101–107.

[9] Acquaviva J, Jun HJ, Lessard J, et al. Chronic activation of wild type epidermal growth factor receptor and loss of Cdkn2a cause mouse glioblastoma formation[J]. Cancer Res, 2011, 71(23): 7198–7206.

[10] Dent P, Reardon DB, Park JS, et al. Radiation-induced release of transforming growth factor alpha activates the epidermal growth factor receptor and mitogen-activated protein kinase pathway in carcinoma cells, leading to increased proliferation and protection from radiation-induced cell death[J]. Mol Biol Cell, 1999, 10(8):2493–2506.

[11] de Albuquerque-Xavier AC, Bastos LG, de Freitas JC Jr, et al. Blockade of irradiation-induced autophagosome formation impairs proliferation but does not enhance cell death in HCT-116 human colorectal carcinoma cells[J].Int J Oncol, 2012, 40(4): 1267–1276.

[12] Hatanpaa KJ, Burma S, Zhao D, et al.Epidermal growth factor receptor in glioma: signal transduction, neuropathology, imaging, and radioresistance [J]. Neoplasia, 2010, 12(9): 675–684.

[13] Selznick LA, Shamji MF, Fecci P, et al.Molecular strategies for the treatment of malignant glioma——genes, viruses, and vaccines[J]. Neurosurg Rev, 2008, 31(2): 141–155.

[14] Lammering G, Valerie K, Lin PS, et al. Radiation-induced activation of a common variant of EGFR confers enhanced radioresistance[J]. Radiother Oncol, 2004, 72(3):267–273.

[15] Babu R, Adamson DC. Rindopepimut: an evidence-based review of its therapeutic potential in the treatment of EGFR vⅡ I-positive glioblastoma[J].Core Evid, 2012, 7:93–103.

[16] 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.

[17] Ang C, Guiot MC, Ramanakumar AV, et al. Clinical significance of molecular biomarkers in glioblastoma[J].Can J Neurol Sci, 2010, 37(5):625–630.

[18] Malkoun N, Chargari C, Forest F, et al. Prolonged temozolomide for treatment of glioblastoma:preliminary clinical results and prognostic value of p53 overexpression[J]. J Neurooncol, 2012, 106(1):127–133.

[19] Felsberg J, Rapp M, Loeser S, et al. Prognostic significance of molecular markers and extent of resection in primary glioblastoma patients[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15 (21):6683–6693.

[20] Saito T, Hama S, Kajiwara Y, et al. Prognosis of cerebellar glioblastomas: correlation between prognosis and immunoreactivity for epidermal growth factor receptor compared with supratentorial glioblastomas [J].Anticancer Res, 2006, 26 (2B):1351–1357.

[21] Jones HA, Hahn SM, Bernhard E, et al. Ras inhibitors and radiation therapy[J]. Semin Radiat Oncol, 2001, 11(4): 328–337.

[22] Toulany M, Baumann M, Rodemann HP.Stimulated PI3K-AKT signaling mediated through ligand or radiation-induced EGFR depends indirectly, but not directly, on constitutive K-Ras activity[J]. Mol Cancer Res, 2007, 5(8): 863–872.

[23] Mukherjee B, McEllin B, Camacho CV, et al. EGFRv Ⅲ and DNA double-strand break repair: a molecular mechanism for radioresistance in glioblastoma[J]. Cancer Res, 2009, 69(10):4252–4259.

[24] Li HF, Kim JS, Waldman T.Radiation-induced Akt activation modulates radioresistance in human glioblastoma cells[J]. Radiat Oncol, 2009, 4:43.

[25] Kao GD, Jiang Z, Fernandes AM, et al. Inhibition of phosphatidylinositol-3-OH kinase/Akt signaling impairs DNA repair in glioblastoma cells following ionizing radiation[J]. J Biol Chem, 2007, 282(29):21206–21212.

[26] Toulany M, Schickfluss TA, Eicheler W, et al. Impact of oncogenic K-RAS on YB-1 phosphorylation induced by ionizing radiation[J].Breast Cancer Res, 2011, 13(2):R28.

[27] Fujii M, Honma M, Takahashi H, et al. Intercellular contact augments epidermal growth factor receptor(EGFR) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)-activation which increases podoplanin-expression in order to promote squamous cell carcinoma motility [J]. Cell Signal, 2012, 25(4):760–765.

[28] Diaz Miqueli A, Rolff J, Lemm M, et al. Radiosensitisation of U87MG brain tumors by anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies[J]. Br J Cancer, 2009, 100 (6):950–958.

[29] Stea B, Falsey R, Kislin K, et al.Time and dose-dependent radiosensitization of the glioblastoma multiforme U251 cells by the EGF receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 ('Iressa')[J].Cancer Lett, 2003, 202(1):43–51.

[30] Wachsberger PR, Lawrence YR, Liu Y, et al. Epidermal growth factor receptor expression modulates antitumor efficacy of vandetanib or cediranib combined with radiotherapy in human glioblastoma xenografts[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2012, 82(1):483–491.