

## 第 3代芳香化酶抑制剂耐药机制及相应对策

万 轲 王雅杰

随着乳腺癌内分泌治疗药物的不断开发与更新,内分泌治疗已成为乳腺癌治疗不可缺少的手段之一,是激素受体阳性患者得以长期生存的主要因素。绝经前妇女,雌激素主要由卵巢分泌,而绝经后患者的雌激素绝大部分由雄激素经外周组织及肿瘤细胞芳香化酶转换产生。三苯氧胺(TAM)用于乳腺癌内分泌治疗已有30余年的历史,大量的meta分析结果显示在乳腺癌术后辅助治疗和晚期姑息治疗中都可以明显降低患者的复发率和病死率,并一度成为激素受体阳性乳腺癌术后辅助内分泌治疗的金标准。尽管第3代芳香化酶抑制剂和促性腺激素释放激素类似物(LHRHa)的问世,其金标准的地位有所动摇,但仍无法被完全取代。TAM仍然是目前最常用的抗雌激素类药物,是所有激素受体阳性乳腺癌患者术后辅助内分泌治疗的标准药物。绝经后乳腺癌妇女目前更多的是使用芳香化酶抑制剂(AIs)进行内分泌治疗。大型临床实验BIG-1-98、ATAC、ES等证实,第3代AIs来曲唑、阿那曲唑疗效优于TAM,依西美坦至少与TAM疗效相等,且不良反应发生机会显著低于三苯氧胺,因此第3代AIs在绝经后乳腺癌患者中的应用逐渐占主导地位。

### 一、AIs的药理机制

芳香化酶属于细胞色素P450家族,在体内以睾酮、雄烯二酮和16- $\alpha$ -羟雄烯二酮为生理底物,经过芳香化作用转化成雌酮和雌二醇。绝经后妇女的雌激素主要通过卵巢以外的组织如脂肪、肝脏、肌肉、毛囊等经芳香化酶将雄激素转化而成。AIs主要通过抑制组织中芳香化酶的活性,降低雌激素水平,还可通过抑制肿瘤细胞内芳香化酶活性,降低肿瘤组织内雌激素水平,从而达到抑制激素依赖性乳腺肿瘤细胞的生长的目的。

### 二、AIs的耐药机制

AIs的耐药机制大致可分两大类:原发性耐药和

获得性耐药。原发耐药是指在芳香化酶阳性和ER阳性乳腺癌患者身上初次使用AIs治疗就缺乏反应。继发耐药则是最初对内分泌有效的患者逐渐产生的耐药。

1 原发性耐药:即便是ER阳性的患者,AIs治疗有效率也只有50%左右。有关AIs耐药的机制近几年研究的较多。Ma CX等研究了人类芳香化酶基因的多态性,88种核苷酸多态性被发现(包括85个SNPs,2个插入删除键和一个多态TTTA重复序列),其中大多数都在非编码区域,而4个编码区域eSNP(Tp39Arg, Thr20Met, Arg264Cys和 Met364Thr)中, Met364Thr的多态性被认为与依西美坦治疗疗效差有关<sup>[1]</sup>。此外Barone等发现ER- $\alpha$ 上908核苷酸突变,导致ER- $\alpha$ 303残基上的Lys303Arg可通过PI3K/Akt通路引起对阿那曲唑的耐药。这一发现提示ER- $\alpha$ 上K303R变异可能是预测AIs是否有效的新指标,而使用PI3K/Akt抑制剂可能逆转AI耐药<sup>[2]</sup>。Fuqua已经报道Lys303Arg变异导致ER- $\alpha$ 超敏,可使肿瘤细胞耐受雌激素剥夺环境<sup>[3]</sup>。

2 继发性耐药:在AIs的继发耐药方面,研究较多是ER和生长因子通路的串话效应(cross-talk)。因此大部分学者认为AI耐药与ER- $\alpha$ 缺失,生长因子信号上调以及ER敏感性提高有关<sup>[4]</sup>。为了验证这个假设,不少学者建立了乳腺癌AI耐药细胞系模型并进行研究。

Brodie等利用来曲唑耐药细胞LTLTCa(letrozole-resistant tumors after 56 weeks of treatment),发现该细胞系中HER2/Gab-2/p-Shc/p-Raf/p-MEK1/2以及p-MAPK均上调,尽管ER- $\alpha$ 总量减少,但来曲唑耐药细胞(28周和56周)中磷酸化ER- $\alpha$ 水平显著高于来曲唑敏感细胞(4周),从而得出结论:ER表达下降,HER2/Raf/MAPK与ER之间的交叉串话导致ER通过配体非依赖性的方式磷酸化发挥作用<sup>[5]</sup>。

在Brodie的实验室中也观察到来曲唑耐药机制与ER- $\alpha$ 和HER2之间的串话作用有关,其导致

基金项目:上海市重点学科建设项目(B905)

作者单位:200433 上海,第二军医大学附属长海医院肿瘤科

通讯作者:王雅杰,电子邮箱:ya.jia0459@163.com

MAPK 激活和 ER- $\alpha$  磷酸化, 从而促使乳腺癌细胞增生。有趣的是, 来曲唑耐药细胞中 ER- $\alpha$  的浓度只相当于野生型细胞的 50%<sup>[6]</sup>。

在普通乳腺癌细胞中几乎无双调蛋白 (AREG), 而 X. Wang 等发现 MCF-7 细胞经依西美坦刺激后强烈表达 AREG, 而 AREG 证实为依西美坦耐药细胞重要的功能性生长因子<sup>[7]</sup>。

但也有学者认为 AIs 耐药与患者体内雄激素代谢产物有关, M. J. Skora 认为 AIs 的作用使得乳腺癌患者血液中雌激素的水平明显下降, 但雄激素水平基本不变, 其中 5 $\alpha$ -双氢睾酮的代谢产物 3 $\beta$ Adiol 具有弱 ER- $\alpha$  激动剂作用, 并可诱导 ER- $\alpha$  反应基因 GREB1 生成, 而 GREB1 恰恰是促使乳腺癌细胞生长的 ER- $\alpha$  下游特殊靶点<sup>[8]</sup>。

### 三、逆转耐药的策略

鉴于耐药机制的复杂性, 涉及激素受体表达和功能变化、药物代谢改变、多种生长刺激通路的交叉调节以及有关基因转录调节机制异常, 乳腺癌 AIs 治疗耐药的患者, 需要多种途径的尝试与用药。

1 阻断引起乳腺癌异常活化的信号通路: 已有学者报道用基因工程的方法以 siRNA 去除 AREG 可抑制依西美坦耐药细胞生长<sup>[7]</sup>。S. H. Iscox 前期临床数据显示选择性雌激素下调剂 (SERD) 氟维斯群可抑制已获得抵抗雌激素剥夺乳腺癌细胞的生长<sup>[9]</sup>。

在体外模型中, 雌激素剥夺联合 EGFR 抑制剂 - 吉非替尼或者 HER2 抑制剂曲妥珠单抗, 较单纯雌激素剥夺明显延迟获得性耐药<sup>[10]</sup>。

2 多药联合治疗达到多靶点抑制阻断肿瘤异常活化和增生: 试验显示将曲妥珠单抗加入来曲唑治疗中可延长乳腺癌细胞对于内分泌治疗的敏感时间, 而且对于已经产生 AI 耐药的乳腺癌患者, 来曲唑联合曲妥珠单抗治疗可能是有效的治疗手段<sup>[5]</sup>。Macedo LF 等实验中 LTLTCa 细胞中加入 HER2 阻断剂曲妥珠单抗或是 MAPK 抑制剂 PD98059 可使 LTLTCa 细胞中 ER 表达较对照组显著提高, 并可达到亲代 MCF-7Ca 的水平<sup>[5]</sup>。曲妥珠单抗对于 LTLT 细胞生长产生的抑制作用与剂量呈正比, 同时 p-HER2 以及 p-MAPK 也被曲妥珠单抗抑制。并且, 曲妥珠单抗具有使 LTLT 细胞中 ER 水平以及对于雌二醇敏感性完全恢复正常的功能<sup>[5]</sup>。III 期临床试验——TANDEM 试验也同样证明了以上观点, 该试验将患者随机分为两组, 一组仅接受阿那曲唑 (1mg/d) 治疗, 另一组接受曲妥珠单抗 [4mg/(kg·d)], 此后以 2mg/(kg·

qw)] 和阿那曲唑联合治疗。结果显示, 联合治疗组的无进展生存期、临床获益率和疾病进展时间均显著优于阿那曲唑单药组 ( $P$  值分别为 0.0016、0.026 和 0.0007), 总反应率和总生存期虽然未显示统计学差异, 但较后者出现优势趋势 ( $P$  值分别为 0.018 和 0.325)。

II 期临床试验——EGF 30008 研究结果证实拉帕替尼可显著增强内分泌治疗对 ER/PR 阳性、HER2 阳性转移性乳腺癌患者 (mBC) 的疗效, 拉帕替尼联合来曲唑组与来曲唑单药组的无进展生存期 (PFS) 分别为 8.2 个月和 3.0 个月 ( $P = 0.019$ ), 这种联合有可能成为 ER/PR 阳性、HER2 阳性 mBC 未来的一线方案。

有学者尝试研究联合 AIs 和 TKI 治疗绝经后雌激素依赖型乳腺癌的女性<sup>[11]</sup>。这项临床试验在患者术前使用来曲唑和伊马替尼 (imatinib) 约 12 周, 结果发现口服来曲唑 2.5mg 1 次/日及伊马替尼 400mg 2 次/日的患者中, 有 1 例达到病理完全缓解, 而整体缓解率约为 90%, 比以往单独于手术前口服来曲唑 2.5mg 1 次/日, 提高了约 30%<sup>[11, 12]</sup>。尽管试验结果十分理想, 但不良反应却影响治疗的连续性, 联合较低剂量的来曲唑与伊马替尼的试验正在进行中, 相信进一步的分子生物学研究将有助于改善激素依赖型乳腺癌的治疗效果。

因此, 在当前众多试验结果初见成效的同时, 对于多个药物同时使用引起的经济问题、药物之间相互作用、患者耐受等问题仍值得进一步探索。

3 寻找新的治疗靶点: 组蛋白去乙酰基酶抑制剂 (HDACI) 已经证实可使 ER 阴性乳腺癌细胞重新表达 ER- $\alpha$ <sup>[13]</sup>。将组蛋白去乙酰基酶抑制剂 (HDACI) MS-275 用于 ER(-)/HER2(-) 的 MDA-MB-231 细胞, 发现 ER- $\alpha$  以及芳香化酶连同雄激素受体一并表达<sup>[14]</sup>。基于以上发现, Brodie 实验室在切除卵巢的老鼠体内种植 ER(-)/HER2(-) 的 MDA-MB-231 细胞, 分成 3 组, 分别用 MS-275、来曲唑、MS-275+来曲唑治疗, 结果显示单独使用 MS-275 或来曲唑效果十分微弱, 而联合两种药物可明显抑制肿瘤细胞生长<sup>[15]</sup>。

非甾体抗炎药 (NSAIDs) 有助于乳腺癌治疗。有报道指出 COX-2 抑制剂尼美舒利可抑制 PGE<sub>2</sub> 生成, 后者可诱导鼠类乳腺癌变。另有报道指出尼美舒利可抑制某些乳腺癌细胞株中芳香化酶的活性和表达。此外有研究指出一些尼美舒利类似物可选择性

地抑制乳腺癌细胞增生过程中的 HER2过表达,这就提示该复合物可逆转激素依赖型乳腺癌的 AI耐药问题<sup>[16]</sup>。

4 通过不同 AI之间的交替使用解决耐药问题: S Chen等考虑依西美坦, 来曲唑以及阿那曲唑通过不同机制抑制芳香化酶。因此, 有理由相信不同 AI之间的耐药机制不完全相同<sup>[17]</sup>。Lønning PE推断甾体类 AI与非甾体类 AI之间缺乏完全交叉耐药<sup>[18]</sup>。甾体类和非甾体类 AI之间存在部分非交叉耐药也已得到了证实: 在一项小型研究中, 来曲唑/阿那曲唑治疗失败后换用依西美坦, 临床获益率为 43.5%, 中位 TTP为 5.1个月, 而依西美坦治疗失败后换用来曲唑/阿那曲唑的临床获益率为 55.6%, 中位 TTP为 9.3个月。

5 使用 AI过程中适当间断以推迟耐药发生: 除交替使用不同 AI逆转耐药外, 近期许多学者发现较传统的连续用药, 间断用药也可不同程度地逆转耐药或延长药物有效时间, Brodie等最近发现当 MCF-7 来曲唑耐药肿瘤细胞间断治疗 4周后, 在间断组肿瘤中, HER2/p-MAPK 活性逐渐下降, 同时 ER- $\alpha$ 和芳香化酶蛋白及活性上升。再次使用来曲唑治疗却获得了更长的有效期<sup>[19]</sup>。Chen的实验室中观察到间断使用依西美坦相比连续使用依西美坦, 可延迟继发性耐药的发生。

总之, AI的耐药机制仍不清楚, 一般认为 AI继发耐药则主要是 ER与肿瘤细胞生长信号通路的串话效应有关。针对其继发耐药的对策治疗主要集中在异常信号通路的靶向阻断、多药联合治疗、不同抗雌激素药物之间的交替使用等。虽然获得的效果给我们带来了希望, 但仍然有待学者们进行进一步的研究和探索。

#### 参考文献

- 1 Ma CX, Adjei AA, Salvaggione OE, *et al*. Human aromatase gene resequencing and functional genomics. *Cancer Res* 2005; 65(23): 11071-11082
- 2 Barone I, Cui Y, Herynk MH, *et al*. Expression of the K303R estrogen receptor- $\alpha$  breast cancer mutation induces resistance to an aromatase inhibitor via addiction to the PI3K/Akt kinase pathway. *Cancer Res* 2009; 69(11): 4724-4732
- 3 Fuqua SA, Wilschke C, Zhang QX, *et al*. A hypersensitive estrogen receptor- $\alpha$  mutation in premalignant breast lesions. *Cancer Res* 2000; 60(15): 4026-4029
- 4 Zilli M, Grassadonia A, Tinari N, *et al*. Molecular mechanisms of endocrine resistance and their implication in the therapy of breast cancer. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1795(1): 62-81
- 5 Macedo LF, Sabnis G, Brodie A. Aromatase inhibitors and breast cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1151: 162-173
- 6 Brodie A, Jelovac D, Sabnis G, *et al*. Model systems: mechanisms involved in the loss of sensitivity to letrozole. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 95(1-5): 41-48
- 7 Wang X, Masri S, Phung S, *et al*. The role of amphiregulin in exemestane-resistant breast cancer cells: evidence of an autocrine loop. *Cancer Cancer Res* 2008; 68(7): 2259-2265
- 8 Sikora MJ, Cordero KE, Larios JM, *et al*. The androgen metabolite 5 $\alpha$ - $\alpha$ -androstane-3 $\beta$ -17 $\beta$ -diol (3 $\beta$ -Adiol) induces breast cancer growth via estrogen receptor: implications for aromatase inhibitor resistance. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 115(2): 289-296
- 9 Hiscox S, Davies EL, Lee PB, *et al*. Aromatase inhibitors in breast cancer. *Maturitas* 2009; 63: 275-279
- 10 Massaweh S, Osborne CK, Jiang S, *et al*. Mechanisms of tumor regression and resistance to estrogen deprivation and fulvestrant in a model of estrogen receptor-positive, HER-2/neu-positive breast cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 8266-8273
- 11 Chow LW, Yip AY, Loo WT, *et al*. Evaluation of neoadjuvant inhibition of aromatase activity and signal transduction in breast cancer. *Cancer Lett* 2008; 262: 232-238
- 12 Chow LW, Yip AY, Loo WT, *et al*. Celecoxib antiaromatase neoadjuvant (CAAN) trial for locally advanced breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008; 111: 13-17
- 13 Yang X, Phillips DL, Ferguson AT, *et al*. Synergistic activation of functional estrogen receptor (ER)- $\alpha$  by DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibition in human ER- $\alpha$ -negative breast cancer cells. *Cancer Res* 2001; 61(19): 7025-7029
- 14 Sabnis G, Gobubeva O, Macedo L, *et al*. Combination of HDAC inhibitor entinostat (SNDX-275) with letrozole provides control over increased growth in MDA-MB-231 xenograft models. *Cancer Res* 2009; 69(2): 398s
- 15 Brodie A, Macedo L, Sabnis G. Aromatase resistance mechanisms in model systems in vivo. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2009 Sep 22 [Epub ahead of print]
- 16 Su B, Chen S. Lead optimization of COX-2 inhibitor nimesulide analogs to overcome aromatase inhibitor resistance in breast cancer cells. *Bioorg Med Chem Lett* 2009; 19(23): 6733-6735
- 17 Chen S, Masri S, Hong Y, *et al*. New experimental models for aromatase inhibitor resistance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 106(1-5): 8-15
- 18 Lønning PE. Lack of complete cross-resistance between different aromatase inhibitors: a real finding in search for an explanation? *Eur J Cancer* 2009; 45(4): 527-535
- 19 Sabnis G, Gobubeva O, Gilani R, Macedo L, Brodie A. Sensitivity to the aromatase inhibitor letrozole is prolonged after a "break" in treatment. *Mol Cancer Ther* 2010; 9(1): 46-56

(收稿: 2010-02-27)

(修回: 2010-04-21)