

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.15.042

· 专论与综述 ·

Hsp90 分子抑制剂拮抗肿瘤耐药的研究进展 *

赵志敏 柳晓春 王秀娥 戚 欣 李 静[△]

(中国海洋大学医药学院教育部重点实验室 山东 青岛 266003)

摘要: Hsp90 作为热休克蛋白家族中的重要一员, 是一种对细胞生存所必需的分子伴侣, 它发挥着稳定顾客蛋白构象、维持其功能的作用。许多顾客蛋白在肿瘤中处于过度表达或持续激活状态, 与肿瘤的发生发展有着密切的关系。因此, Hsp90 在近年的研究中倍受关注, 已经发展为抗肿瘤治疗的良好靶点, 目前已经有多个 Hsp90 抑制剂进入临床实验。近年随着肿瘤分子生物学的研究, 肿瘤分子靶向治疗已取得明显成果, 针对多种癌症已获得多个用于靶向治疗的单克隆抗体或小分子化学物质, 如用于治疗某些 HER2 阳性乳腺癌的曲妥珠单抗、用于治疗 NSCLC 的吉非替尼等。然而随着这些药物的应用, 肿瘤耐药性不可避免的产生。多方面研究表明 Hsp90 抑制剂会引起与耐药相关的多个分子的降解, 提示其在拮抗耐药方面具有重要的意义。本文就 Hsp90 分子抑制剂在拮抗肿瘤耐药方面的研究进行综述。

关键词: Hsp90; 肿瘤; 靶向治疗; 耐药

中图分类号: R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)15-2967-05

Hsp90 Inhibitor and its Development in Antagonizing Tumor Resistance*

ZHAO Zhi-min, LIU Xiao-chun, WANG Xiu-e, QI Xin, LI Jing[△]

(Key Laboratory of Marine Drugs, Ministry of Education, School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao, Shandong, 266003, China)

ABSTRACT: As an important member of Heat Shock Proteins, heat shock protein 90 (HSP90) is a molecular chaperone protein essential for cellular survival through sustaining the stability and function of a diverse range of client proteins. Many of the client proteins are highly expressed or over-activated in cancer cells, suggesting that it may be critically important for cancer cell growth and/or survival. Hence, Hsp90 has attracted much attention recently and become a major therapeutic target for cancer. There have been some Hsp90 inhibitors entered into clinical trial. In recent years, with the study of cancer molecular biology, molecularly targeted therapy has achieved significant advances in cancer therapy. Some monoclonal antibodies or small-molecule chemicals are designed for a variety of cancers, such as Trastuzumab using for HER2-positive breast cancer, Gefitinib for NSCLC treatment. But with the application of these drugs, cancer resistance inevitably generated. Various studies show that Hsp90 inhibitors may cause the degradation of multiple molecules associated with resistance, indicating that has an important significance in antagonizing resistance. Here we review the research of Hsp90 inhibitor in drug-resistance treatment.

Key words: Hsp90; Tumor; Targeted therapy; Drug-resistance

Chinese Library Classification(CLC): R979.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)15-2967-05

前言

热休克蛋白 90(heat shock protein 90, Hsp90) 是生物进化过程中高度保守的一类蛋白, 在细胞中的含量很高, 通常条件下占细胞总蛋白的 1% -2%。Hsp90 作为分子伴侣与其他的辅分子伴侣如 Hsp70、Hsp40、Hop、p23、cdc37 形成复合体, 并与细胞内的许多 "客户蛋白" 结合在一起, 促进这些蛋白进行适当的折叠、装配, 从而达到其活性构象并增强其稳定性。肿瘤细胞中突变的或者是过表达的 HER2、EGFR、AKT、Raf、p53、v-Src、AR 和 BCR-ABL 都是 Hsp90 的顾客蛋白。目前上述肿

瘤成癌性基因编码分子为靶点研发药物已经取得显著成果, 但同时耐药性不可避免的产生。由于 Hsp90 对这些分子起到重要的调控作用, 应用 Hsp90 抑制剂拮抗肿瘤耐药是一条重要途径。本文对近几年来 Hsp90 抑制剂与肿瘤耐药关系研究进行综述。

1 Hsp90 与肿瘤

Hsp90 是一个重要的分子伴侣, 从细菌到人体细胞内均有发现。人类 Hsp90 包括两种亚型, 分别是压力诱导下产生的 Hsp90 α 和细胞内组成型表达的 Hsp90 β ^[1], 两者具有 85% 的同

* 基金项目: 国家高技术研究发展(863)计划项目(2011AA09070104)

作者简介: 赵志敏(1988-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 肿瘤药理学, 电话: 0532-82031981, E-mail: zhiminzhao146@163.com

[△] 通讯作者: 李静, 电话: 0532-82031980, E-mail: ljilac@163.com

(收稿日期: 2013-11-27 接受日期: 2013-12-25)

源性,分析表明这是进化过程中基因复制(gene duplication)的结果。上述两种亚型分布于胞浆中,此外细胞内还存在两个 Hsp90 同源物(homologues),分别是位于线粒体中的 TNF receptor-associated protein 1 (TRAP1)和定位于内质网中的 glucose-regulated protein 94 (GRP94)^[2-4]。

Hsp90 是以同源二聚体的形式存在,结构上包括一个含有核苷酸结合位点的 N 端区域,该区域也是辅分子伴侣结合的区域。C 端区域包含二聚化区和第二个核苷酸结合位点。连接 N 端和 C 端的中间区域含有与辅分子伴侣结合的位点并且该区域是 Hsp90 与顾客蛋白发生结合的主要区域。Hsp90 与核苷酸、辅分子伴侣以及顾客蛋白相互作用构成 "Hsp90 机器"^[5-7]。该“机器”在蛋白质翻译后修饰过程中如阻止蛋白聚集、参与膜转运、促进信号分子的构象成熟等方面发挥重要作用。

Hsp90 参与维持顾客蛋白的结构和功能的稳定。目前已知 Hsp90 的顾客蛋白有超过 200 个,包括酪氨酸激酶(AKT、MEK 等)、转录因子(AR、ER 和 p53 等)、结构蛋白(微管、微丝)等^[8]。很多顾客蛋白发挥着促进细胞生长、增殖和存活等重要细胞功能并且在恶性肿瘤中处于过度表达或持续激活状态^[9],与肿瘤的发生和演进有着密切的关系。存在于 NSCLC 中的突变 EGFR、乳腺癌中的 HER2、慢性髓性白血病中的融合蛋白 BCR-ABL 等肿瘤特异性蛋白均是 Hsp90 的顾客蛋白,它们构象与功能的维持和调控需要 Hsp90 的参与^[10]。同时,研究表明 Hsp90 和一些辅分子伴侣在多种肿瘤中呈现高表达^[11],并且 Hsp90 在正常细胞中主要处于静默状态而在肿瘤细胞中处于活化状态,这更进一步促进了肿瘤的发生和发展,因此抑制 Hsp90 就可以达到抑制肿瘤生长的效果。由于 Hsp90 ATPase 区域与细胞内其它蛋白激酶的 ATPase 区域几乎没有相似性^[12],据此可以设计具有高度选择性的小分子抑制剂。目前已经有 17 个 Hsp90 抑制剂进入临床研究阶段,包括 17-AAG、17-DMAG、Ganetespib (STA-9090)、PU-H71 等。17-AAG 是最早进入临床阶段的 Hsp90 抑制剂,目前处于临床 II/III 阶段,但由于它难以获得以及存在严重的毒副作用限制了其进一步应用。对 17-AAG 改造后得到了它的一种水溶性类似物 17-DMAG,17-DMAG 在临床动物模型中活性高于 17-AAG 并且有较好的口服生物利用度,目前处于临床 I 期。Ganetespib 已经进入临床 III 期,并在多种肿瘤如 NSCLC、乳腺癌、胃癌、黑色素瘤、结肠癌中表现出临床活性。PU-H71 属于嘌呤类 Hsp90 抑制剂,目前处于临床 I 期阶段。

2 Hsp90 与肿瘤耐药

目前随着肿瘤分子靶向治疗的研究,针对肿瘤成瘤性癌基因编码分子抑制剂的研发取得了显著成果。一些抑制剂在遗传病变的肿瘤中产生高效明显的治疗反应;一些已经作为某些特定肿瘤的标准治疗方案如用于 CML 治疗的 BCR-ABL 抑制剂伊马替尼^[13]。但是随着药物的应用,耐药性不可避免的产生。尽管不同药物对不同肿瘤耐药机制各不相同,但存在两个共同的原则:一是存在一定数量基因组不稳定的肿瘤细胞,在药物作用下筛选出对药物不敏感的突变;二是肿瘤基因改变可以导致肿瘤细胞依赖分支信号通路来减少对药物抑制通路的依赖作用^[14]。

由于 Hsp90 在肿瘤中的重要作用,抑制 Hsp90 的功能会导致其顾客蛋白不稳定并最终经蛋白酶体途径降解^[15],并切断肿瘤对分支信号的依赖性,表现出明显的抗肿瘤效果。进一步研究表明,一些已经发生耐药的肿瘤对 Hsp90 抑制剂仍然表现出显著的敏感性,显示出 Hsp90 抑制剂可以作为一种针对耐药性的治疗策略。

(1)肺癌是目前全世界最常见的恶性肿瘤,非小细胞肺癌是指除小细胞肺癌以外的所有类型的肿瘤,其发生率约占所有肺癌的 75-80%。约有 62%的 NSCLC 中存在 EGFR 的高表达,与非小细胞肺癌患者的预后密切相关。目前通过 FDA 批准上市的两款 EGFR TKIs (吉非替尼和埃罗替尼)已经用于非小细胞肺癌的治疗,对 EGFR TKIs 敏感的人群常伴有 EGFR 的突变,研究表明非小细胞肺癌中 EGFR 18、19、21 外显子突变可以增强其对 EGFR TKIs 的敏感性,然而随着吉非替尼和埃罗替尼的应用,许多患者对这两种抑制剂普遍产生耐药。

NSCLC 对 EGFR TKIs 的耐药性分为原发性耐药和继发性耐药。前者主要是由于肿瘤细胞存在某些自发性突变而产生的耐药,如 5-30%的 NSCLC 中检测到 K-Ras 基因突变^[16],该突变导致 Ras-Raf-MEK-ERK 信号通路在不依赖 EGFR 的情况下持续激活,因而对 EGFR-TKIs 不敏感。后者是由于部分患者产生了二次突变如 T790M 突变^[17]、c-Met 基因扩增^[18]等。

通常赋予癌细胞耐药性的突变更加依赖于 Hsp90 的功能来维持其构象的稳定性,因此,含有这些突变的细胞对 Hsp90 抑制剂会更加敏感^[19]。Kobayashi N 等研究了 Hsp90 抑制剂 17-DMAG 对多种 NSCLC 细胞株的抗增殖效应。MTS 检测得到 17-DMAG 对 13 种 EGFR 突变细胞株(包含耐药株)的 IC₅₀ 为 0.04 至 0.16 μ M,而对 7 种野生型 EGFR 细胞株的 IC₅₀ 为 1.6 至 27.4 μ M。Western blot 分析表明经 17-DMAG 作用后,EGFR 突变细胞株中 p-EGFR、p-AKT、p-MAPK、Cdk4 及 CyclinD1 的水平明显下降而在野生型细胞中 17-DMAG 的效果相对较弱^[20]。Ayana Aawai 报道称 17-AAG 可以引起 WT-EGFR 的下调,但这需要更高的浓度和作用时间^[21]。因此含有 EGFR 突变的细胞对 Hsp90 抑制更加敏感。

K-Ras 突变是引起 NSCLC 对 EGFR TKIs 原发性耐药的主要原因。目前还没有获得针对 K-Ras 的特异性抑制剂。通过抑制 Hsp90 使得细胞内众多信号分子发生降解从而可以拮抗由 K-Ras 突变产生的耐药。Jamie Acquaviva 等报道 Hsp90 抑制剂 Ganetespib 对表达 K-Ras 突变的 NSCLC 细胞具有明显的抑制效果。他首先检测了 Ganetespib 对 20 种表达 K-Ras 突变的非小细胞肺癌株的细胞毒,结果表明 Ganetespib 可以降低所有细胞株的生存能力,IC₅₀ 在 5-64 nM 之间。虽然 K-Ras 并不是 Hsp90 顾客蛋白,不会因 Hsp90 抑制而被降解。但 Ganetespib 作用于 H727 和 H441(K-Ras 突变)细胞后,EGFR、Met 呈剂量依赖性下降;K-Ras 的底物 C-Raf 也明显被降解,同时还伴随着一些下游信号分子如 p-MEK、p-ERK、p-AKT 的失活^[22]。这些表明抑制 Hsp90 会影响突变 K-Ras 介导的信号转导,进而逆转由突变 K-Ras 引发的耐药。

获得 EGFR T790M 二次突变的 NSCLC 对可逆性 EGFR TKIs 吉非替尼和埃罗替尼产生耐药。目前,不可逆 EGFR TKI CL-387,785 已经用于耐药细胞株的治疗,但 CL-387,785 抑制

T790M 突变的 EGFR 磷酸化需要非常高的浓度,并且在表达 T790M 突变 EGFR 的细胞中,CL-387,785 不能完全抑制其他 RTKs 的活性,这些缺陷导致 AKT 和 mTOR 的激活,完全抑制 T790M EGFR 产生的信号需要联合应用 CL-387,785 和 mTOR 抑制剂,而应用 Hsp90 抑制剂就能克服这些缺陷。Shimamura T 等报道称 17-DMAG 作用于 H1975 细胞(含有 T790M 突变)后引起 EGFR、AKT、p70S6K 及其磷酸化水平的下调且效果好于 CL-387,785;17-DMAG 对 p-S6 的抑制效果类似于雷帕霉素。这表明 17-DMAG 抑制了 H1975 细胞中 EGFR-AKT-mTOR-p70S6K-S6 信号通路,效果等同于 CL-387,785 和 mTOR 抑制剂的联用。此外,17-DMAG 还对细胞内其他酪氨酸激酶如 c-Met、ErbB2、ErbB3 等产生抑制作用。进一步的体内模型数据表明,17-DMAG 可引起肿瘤体积减小,具有比较显著的体内抗肿瘤效果^[23]。因此,Hsp90 抑制剂可以拮抗由于 EGFR T790M 二次突变产生对 EGFR TKIs 的耐药性。

HGF 过量表达也是 NSCLC 对 EGFR TKIs 产生耐药性的重要原因。Koizumi H 等人发现稳转 HGF 基因的 Ma-1 和 H1975(L858R、T790M)以及 PC-9(19del)和 Ma-1 细胞在 HGF 存在时对埃罗替尼产生耐药。在 17-DMAG 的作用下这些细胞内 EGFR 和 Met 的表达量明显下降,并且明显抑制这些细胞的生长同时引发细胞凋亡。通过在体内对由 HGF 过量表达引发的耐药肿瘤进行作用,发现 17-DMAG 可明显抑制肿瘤的生长^[24]。

除上述突变导致耐药性产生以外,20 外显子的插入突变也会抵抗吉非替尼和埃罗替尼的作用,但其对 Hsp90 抑制是敏感的,在 17-AAG 的作用下,这种突变 EGFR 得到降解,AKT 和 STAT3 信号被抑制并引起肿瘤细胞死亡^[25,26]。

综上,我们可以看到 Hsp90 抑制剂应用于 EGFR TKIs 耐药的 NSCLC 具有良好的效果,抑制 Hsp90 会拮抗 NSCLC 对 EGFR TKIs 的耐药。

(2)原癌基因 HER2 在 20-30%乳腺癌中呈现过表达,是重要的乳腺癌预后判断指标。通过抑制凋亡、上调血管内皮生长因子(VEGF)而增加肿瘤细胞的侵袭力。HER2 单抗 Hereptin(赫赛汀,一种人源化的 p185 胞外区重组单克隆抗体)的应用使得部分 HER2/neu 过表达的乳腺癌患者获得临床收益,但多数患者在一年内产生耐药。HER2 是对 Hsp90 最为依赖也是对 Hsp90 抑制最为敏感的顾客蛋白之一,由于 Hsp90 抑制剂引起 HER2 及其下游信号分子的降解,因此对于 Trastuzumab 耐受的患者来说具有良好的前景。

大多数耐药的肿瘤表现出 HER2 信号通路持续过度的激活。耐药机制有多种,包括 HER2 胞外与抗体结合区域的缺失、HER2 与其他 RTKs 形成二聚体并激活,肿瘤抑制因子如 PTEN 的失活下调以及 PI3K 突变激活。Scaltriti M 等研究表明 Hsp90 抑制剂 IPI-504 在 HER2 阳性且因 PI3K 突变激活或 PTEN 表达下降引起的原发或继发耐药模型中具有良好的效果。IPI-504 处理 BT474R (HER2+),BT474H1047R(HER2+, PI3K mutation)乳腺癌细胞株,呈现剂量依赖性抑制细胞增殖。Western blot 检测 IPI-504 作用于 BT474R 和 BT474H1047R 细胞后引起细胞内 HER2 表达下降并抑制了 AKT、MAPK 信号通路。Trastuzumab 在体内不能抑制 BT474R 肿瘤的生长而

IPI-504 却可以产生抑制作用,同时还会引起肿瘤组织内 HER2、AKT、p-AKT 及 p-MAPK 水平的下调^[27]。因此对于由 HER2 阳性引发的乳腺癌耐药,抑制 Hsp90 可以作为一种新颖的治疗方法。

HER2 胞外区缺失形成 p95-HER2 失去与 Trastuzumab 结合的区域进而产生耐药,但在 Hsp90 抑制剂的作用下这种耐药得到逆转。Chandralapaty S 报道,稳转 p95-HER2 的 T47D 细胞经 Hsp90 抑制剂 SNX-2112 作用后引起细胞内 p95-HER2 的降解同时 AKT(S473)和 ERK(T202/Y204)活性也得到抑制;细胞毒实验表明 Trastuzumab 对表达 p95-HER2 的 T47D 细胞有很小的增殖抑制效果而 SNX-2112 几乎可以完全抑制该细胞的增殖;在体内应用 SNX-5422(SNX-2112 的一种口服前体药)处理表达 p95-HER2 的 MEFS 肿瘤模型后,可以看到 SNX-5422 在 50 mg/kg、每周给药三次、连续给药两周的方案下完全抑制了肿瘤的生长^[28]。作为 Hsp90 的顾客蛋白,p95-HER2 在 Hsp90 抑制剂的作用下发生降解,因此抑制 Hsp90 可以逆转由 p95-HER2 引发的耐药。

三阴性乳腺癌(TNBCs)是指 ER、PR、HER2 同时缺失的一种乳腺癌类型。TNBC 因缺乏内分泌及抗 HER2 治疗的靶点,目前尚无针对性的标准治疗方案,治疗仍以化疗为主。Caldas-Lopes E 研究显示 PU-H71 在 1 μ M 浓度下处理 3 种 TNBCs 细胞株 MDA-MB-468、MDA-MB-231、HCC-1806 72 h 后,细胞死亡率分别为 80%、65%、80%;Western blot 检测显示 PU-H71 可以剂量依赖性的抑制 EGFR、HER3、IGF1R、c-Kit 等受体及其下游信号分子的表达和活化,切断引起细胞生存能力增强的信号;在周期阻断方面,PU-H71 通过减少 CDK1 和 Chk1 的水平使得 TNBC 细胞阻断在 G2/ 期;PU-H71 还可通过下调 AKT 和 Bcl-x1 蛋白水平和抑制其活性来诱发 TNBC 细胞凋亡^[29]。综上,TNBCs 对 Hsp90 抑制剂 PU-H71 十分敏感,PU-H71 引起与肿瘤增值、生存有关的多条信号通路的下调。在这种最难治疗的乳腺癌类型中,Hsp90 作为以为一个关键的、多模态(multimodal)靶点,进一步在临床实验中应用 PU-H71 是十分有意义的。

(3)ALK 最早是在间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)的一个亚型中被发现的,因此定名为间变性淋巴瘤激酶(ALK)。ALK 融合到核磷蛋白的 N 末端部分(NPM-ALK)导致组成性激活。大多数 ALK 基因融合源于染色体 2p 的倒位,造成棘皮动物微管相关类蛋白 4(EML4)的 N 端与与 ALK 的激酶区融合。据目前统计,EML4-ALK 出现在大约 3-5%的非小细胞肺癌中^[30]。克唑替尼于 2011 年 8 月 26 日经美国 FDA 批准用于治疗 ALK 阳性非小细胞肺癌,且表现出很好的抗肿瘤活性。然而,由于耐药性的产生,基本上一年之内这些患者的病情就会复发^[31]。Katayama R 研究表明耐药的原因主要与 EML4-ALK 基因扩增或其激酶区的突变(L1196M)相关。在体内体外实验中这些耐药的细胞对两种结构不同的第二代 ALK 抑制剂 NVP-TAE684 和 AP26113 十分敏感,同时对 Hsp90 抑制剂 17-AAG 也十分敏感。其中 17-AAG 明显抑制亲代 H3122 和 H3122CR(克唑替尼耐药)细胞的生长,且在 30 nM 浓度下就明显引起两种细胞中 p-ALK 和 ALK 蛋白水平的下降,在 10 nM 时就可产生明显的细胞毒作用^[32]。同样,Sasaki T 等在含有 RANBP2-ALK 融合

表达的炎症性肌纤维母细胞瘤(IMT)中检测到 ALK 的一个二次突变(F1174L),该突变抑制克唑替尼引起的 ALK 信号下调并且阻止 RANBP2-ALK Ba/F3 细胞凋亡而产生耐药,ALK 抑制剂 TAE684 和 Hsp90 抑制剂 17-AAG 在含有 F1174L 突变的模型中均十分有效。在体外,表达或不表达 F1174L 的 Ba/F3 细胞对 17-AAG 同样敏感^[33]。因此,除第二代 ALK 抑制剂外,抑制 Hsp90 对于克服克唑替尼耐药也是一个很好的选择。

(4)ABL 基因突变与 CML 发生密切相关。在 CML 中通过染色体易位形成 BCR-ABL 融合基因。BCR-ABL 编码一种不受调节的、酪氨酸蛋白激酶,融合导致其处于持续激活状态。针对该靶点的抑制剂伊马替尼用于 CML 治疗效果得到广泛认可。费城染色体阳性的白血病患者通常因 BCR-ABL 激酶区发生点突变或基因扩增而对伊马替尼产生获得性耐药。BCR-ABL 作为 Hsp90 顾客蛋白,对 Hsp90 抑制显得十分敏感。Gorre M E 等应用 17-AAG 或 GA 作用于含两种突变 BCR-ABL(T315I 和 E255K)的造血细胞结果表明两种化合物均可引起野生型和突变型 BCR-ABL 的降解并抑制细胞增殖。在这里 GA 1 μ M 处理 24 h 可明显引起野生型 BCR-ABL 的下调,与此相比 GA 在 0.5 μ M 浓度下即可下调两种突变 BCR-ABL 的表达量,同样的,17-AAG 也表现出类似的效果--对突变型 BCR-ABL 更加敏感^[34]。雷公藤红素作为一种新型 Hsp90 抑制剂,通过阻断 Hsp90 与 Cdc37 的结合而发挥作用。Lu Z 等研究了雷公藤红素对因 T315I 突变引起的伊马替尼耐药的作用,结果显示雷公藤红素在 1 μ M 时处理 KMB5-T315I 细胞 48 h 后,明显引起 BCR-ABL 降解,同时抑制了 AKT、ERK、STAT5 的活性;采用雷公藤红素 2 μ M 处理 KMB5-T315I 细胞不同时间后,流式细胞仪检测显示细胞发生明显凋亡,PARP 发生剂量依赖性剪切;体内实验表明,与对照组相比雷公藤红素显著抑制了 KMB5-T315I 细胞移植瘤的生长,且免疫组化分析表明雷公藤红素在体内抑制了 BCR-ABL 的表达^[35]。因此,Hsp90 抑制剂可以拮抗伊马替尼耐药。

(5)c-Met 是一种膜相关酪氨酸激酶,在与肝细胞生长因子(HGF)结合之后激活,启动下游多条信号通路参与细胞增值、生存等多种生理活动。而基因扩增和突变也会引起 c-Met 激活,调查表明扩增发生在多种肿瘤细胞中,如胃癌、非小细胞肺癌等。已经证实 c-Met 基因扩增是引起 NSCLC 对吉非替尼耐药的一种机制^[36]。如前所述,17-AAG 可以克服此种耐药^[24]。Wang 等证实 c-Met 抑制剂只能短暂抑制依赖 c-Met 的下游信号分子如 AKT、ERK、STAT3 及 EGFR 家族激活。采用 c-Met 抑制剂 SU1127 处理两种 Met 扩增的细胞系:NSCLC H1993 和胃癌 MKN45,引起 c-Met 持续抑制,但是由于 PKC δ 的激活导致 c-Met 下游很快又恢复活性状态,进而产生耐药。相比较,17-AAG 可持续抑制 c-Met 活性并引起蛋白降解且对下游信号分子 PDK1、AKT、Raf、STAT3 等产生持续抑制效果^[37]。Bachleitner-Hofmann T 等通过体外培养获得了 Met 激酶抑制剂 PHA-665752 耐药的 PR-GTL-16 细胞株,同时发现 Hsp90 抑制剂可以拮抗这种耐药,运用 Hsp90 抑制剂 SNX-2112 处理 PR-GTL-16 细胞导致 Met、AKT、EGFR、HER2 的降解,同时也诱导 Met、AKT 和 MAPK 的脱磷酸化以及 CyclinD1 的减少,引起细胞阻断在 G1 期并诱发细胞凋亡。体内 SNX-2112 的口

服前体药物 SNX-5542 在 PR-GTL-16 裸鼠移植瘤模型中表现出明显的抗肿瘤活性^[38]。这些表明抑制 Hsp90 可以成为一种针对 Met 基因扩增的治疗方法,尤其是针对 Met 耐药细胞。

3 结语

自第一个 Hsp90 抑制剂出现以来,目前已有多个化合物进入临床研究阶段,但 Hsp90 抑制剂仍存在多方面问题,如毒副作用较大、来源有限、稳定性差等。因此,开发新一代 Hsp90 抑制剂,提高它们的成药性仍然十分必要。此外,多方面的研究显示 Hsp90 抑制剂显著多途径地拮抗分子靶点肿瘤药物的耐药性,特别是肿瘤成瘤性癌基因编码分子突变引起的耐药,而且 HSP90 抑制剂也因联用减少用量而有效避免了其自身的毒副作用,提示靶向药物与 Hsp90 抑制剂联合应用具有十分光明的前景。

参考文献(References)

- [1] Millson SH, Truman AW, Racz A, et al. Expressed as the sole Hsp90 of yeast, the alpha and beta isoforms of human Hsp90 differ with regard to their capacities for activation of certain client proteins, whereas only Hsp90beta generates sensitivity to the Hsp90 inhibitor radicicol[J]. FEBS J, 2007, 274(17): 4453-4463
- [2] Dollins DE, Warren JJ, Immormino RM, et al. Structures of GRP94-nucleotide complexes reveal mechanistic differences between the Hsp90 chaperones[J]. Mol Cell, 2007, 28(1): 41-56
- [3] Frey S, Leskova A, Reinstein J, et al. The ATPase cycle of the endoplasmic chaperone Grp94[J]. J Biol Chem, 2007, 282: 35612-20
- [4] Leskova A, Wegele H, Werbeck ND, et al. The ATPase cycle of the mitochondrial Hsp90 analog Trap1[J]. J Biol Chem, 2008, 283(17): 11677-11688
- [5] Ali MM, Roe SM, Vaughan CK, et al. Crystal structure of an Hsp90-nucleotide-p23/Sba1 closed chaperone complex[J]. Nature, 2006, 440(7087): 1013-1017
- [6] Pearl LH, Prodromou C. Structure and mechanism of the Hsp90 molecular chaperone machinery[J]. Annu Rev Biochem, 2006, 75: 271-294
- [7] Picard D. Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation[J]. Cell Mol Life Sci, 2002, 59(10): 1640-1648
- [8] Goetz MP, Toft DO, Ames MM, et al. The Hsp90 chaperone complex as a novel target for cancer therapy[J]. Ann Oncol, 2003, 14(8): 1169-1176
- [9] Hong Zhang, Francis Burrows. Targeting multiple signal transduction pathways through inhibition of Hsp90[J]. J Mol Med, 2004, 82(8): 488-499
- [10] Taldone T, Gozman A, Maharaj R, et al. Targeting Hsp90: small molecule inhibitors and their clinical development[J]. Curr Opin Pharmacol, 2008, 8(4): 370-374
- [11] McDowell CL, Bryan Sutton R, Obermann WM. Expression of Hsp90 chaperone [corrected] proteins in human tumor tissue[J]. Int J Biol Macromol, 2009, 45(3): 310-314
- [12] Dutta R, Inouye M. GHKL, an emergent ATPase/kinase superfamily [J]. Trends Biochem Sci, 2000, 25(1): 24-28
- [13] O'Brien S, Berman E, Moore JO, et al. NCCN Task Force report: tyrosine kinase inhibitor therapy selection in the management of

- patients with chronic myelogenous leukemia[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2011, 9: S1-25
- [14] Barouch-Bentov R, Sauer K. Mechanisms of drug resistance in kinases[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2011, 20(2): 153-208
- [15] Sepp-Lorenzino L, Ma Z, Lebowitz DE, et al. Heribimycin A induces the 20S proteasome and ubiquitin-dependent degradation of receptor tyrosine kinases[J]. J Biol Chem, 1995, 270: 16580-16587
- [16] Adjei AA. K-Ras as a target for lung cancer therapy [J]. J Thorac Oncol, 2008, 3(6): S160-163
- [17] Pao W, Miller VA, Politi KA, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain[J]. PLoS Med, 2005, 2(3): e73
- [18] Smolen GA, Sordella R, Muir B, et al. Amplification of MET may identify a subset of cancers with extreme sensitivity to the selective tyrosine kinase inhibitor PHA-665752[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(7): 2316-21
- [19] Peng C, Brain J, Hu Y, et al. Inhibition of heat shock protein 90 prolongs survival of mice with BCR-ABL-T315I-induced leukemia and suppresses leukemic stem cells[J]. Blood, 2007, 110(2): 678-685
- [20] Kobayashi N, Toyooka S, Soh J, et al. The anti-proliferative effect of heat shock protein 90 inhibitor, 17-DMAG, on non-small-cell lung cancers being resistant to EGFR tyrosine kinase inhibitor[J]. Lung Cancer, 2012, 75(2): 161-166
- [21] Sawai A, Chandarlapaty S, Greulich H, et al. Inhibition of Hsp90 Down-regulates Mutant Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Expression and Sensitizes EGFR Mutant Tumors to Paclitaxel [J]. Cancer Res, 2008, 68: 589
- [22] Acquaviva J, Smith DL, Sang J, et al. Targeting K-Ras-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer with the Hsp90 Inhibitor Ganetespib[J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11(12): 2633-2643
- [23] Shimamura T, Li D, Ji H, et al. Hsp90 inhibition suppresses mutant EGFR-T790M signaling and overcomes kinase inhibitor resistance [J]. Cancer Res, 2008, 68: 5827-5838
- [24] Koizumi H, Yamada T, Takeuchi S, et al. Hsp90 Inhibition Overcomes HGF-Triggering Resistance to EGFR-TKIs in EGFR-Mutant Lung Cancer by Decreasing Client Protein Expression and Angiogenesis[J]. J Thorac Oncol, 2012, 7(7): 1078-1085
- [25] Shimamura T, Lowell AM, Engelman JA, et al. Epidermal growth factor receptors harboring kinase domain mutations associate with the heat shock protein 90 chaperone and are destabilized following exposure to geldanamycins[J]. Cancer Res, 2005, 65: 6401-6408
- [26] Xu W, Soga S, Beebe K, et al. Sensitivity of epidermal growth factor receptor and ErbB2 exon 20 insertion mutants to Hsp90 inhibition[J]. Br J Cancer, 2007, 97: 741-744
- [27] Scaltriti M, Serra V, Normant E, et al. Antitumor activity of the Hsp90 inhibitor IPI-504 in HER2-positive trastuzumab resistant breast cancer [J]. Mol Cancer Ther, 2011, 10: 817-824
- [28] Chandarlapaty S, Scaltriti M, Angelini P, et al. Inhibitors of HSP90 block p95-HER2 signaling in Trastuzumab-resistant tumors and suppress their growth[J]. Oncogene, 2010, 29(3): 325-334
- [29] Caldas-Lopes E, Cerchietti L, Ahn JH, et al. Hsp90 inhibitor PU-H71, a multimodal inhibitor of malignancy, induces complete responses in triple-negative breast cancer models[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(20): 8368-8373
- [30] Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer [J]. Nature, 2007, 448(7153): 561-566
- [31] Choi YL, Soda M, Yamashita Y, et al. ALK Lung Cancer Study Group EML4-ALK mutations in lung cancer that confer resistance to ALK inhibitors[J]. N Engl J Med, 2010, 363(18): 1734-1739
- [32] Katayama R, Khan TM, Benes C, et al. Therapeutic strategies to overcome crizotinib resistance in non-small cell lung cancers harboring the fusion oncogene EML4-ALK[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(18): 7535-7540
- [33] Sasaki T, Okuda K, Zheng W, et al. The neuroblastoma associated F1174L ALK mutation causes resistance to an ALK kinase inhibitor in ALK-translocated cancers[J]. Cancer Res, 2010, 70(24): 10038-10043
- [34] Gorre ME, Ellwood-Yen K, Chiosis G, et al. BCR-ABL point mutants isolated from patients with imatinib mesylate-resistant chronic myeloid leukemia remain sensitive to inhibitors of the BCR-ABL chaperone heat shock protein 90[J]. Blood, 2002, 100(8): 3041-3044
- [35] Lu Z, Jin Y, Qiu L, et al. Celastrol, a novel HSP90 inhibitor, depletes BCR-ABL and induces apoptosis in imatinib-resistant chronic myelogenous leukemia cells harboring T315I mutation[J]. Cancer Lett, 2010, 290(2): 182-191
- [36] Engelman K, Zejnullahu T, Mitsudomi Y, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling[J]. Science, 2007, 316(5827): 1039-1043
- [37] Wang S, Pashtan I, Tsutsumi S, et al. Cancer cells harboring MET gene amplification activate alternative signaling pathways to escape MET inhibition but remain sensitive to Hsp90 inhibitors[J]. Cell Cycle, 2009, 8(13): 2050-2056
- [38] Bachleitner-Hofmann T, Sun MY, Chen CT, et al. Antitumor activity of SNX-2112, a synthetic heat shock protein-90 inhibitor, in MET-amplified tumor cells with or without resistance to selective MET inhibition[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(1): 122-133